

N° d'enregistrement au
C.N.R.S.: A.O. - 10010

ARTICLE PRINCIPAL

recouvrant en partie

LA

THESE

DE DOCTORAT ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITE DE PARIS VI

par

Yves TOURTE

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences

Gamétogénèse et fécondation chez une
Fougère: Etude particulière des infrastructures.

Soutenue le 14 Juin 1974

G. HUREL-PY

Présidente

M. SIGNOL

Examineurs

A.M. CATESSON

N° d'enregistrement au
C.N.R.S.: A.O. - 10010

ARTICLE PRINCIPAL

recouvrant en partie

LA

THESE

DE DOCTORAT ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITE DE PARIS VI

par

Yves TOURTE

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences

Gamétogénèse et fécondation chez une
Fougère: Etude particulière des infrastructures.

Soutenue le 14 Juin 1974

G. HUREL-PY

Présidente

M. SIGNOL

Examineurs

A.M. CATESSON

ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DE L'OÖGENÈSE
CHEZ UNE PTÉRIDOPHYTE :
LE *PTERIDIUM AQUILINUM* (L.) KUHN
I. ÉVOLUTION DES STRUCTURES NUCLÉAIRES

Yves TOURTE

*Université Pierre et Marie Curie, U.E.R. 59, Laboratoire de Biologie Végétale
n° 5, 9, quai Saint-Bernard, Bât. C, 75230 Paris Cedex 05, France*



ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DE L'OOGÉNÈSE CHEZ UNE PTÉRIDOPHYTE : LE *PTERIDIUM AQUILINUM* (L.) KUHN I. ÉVOLUTION DES STRUCTURES NUCLÉAIRES

Yves TOURTE

Université Pierre et Marie Curie, U.E.R. 59, Laboratoire de Biologie Végétale
n° 5, 9, quai Saint-Bernard, Bât. C, 75230 Paris Cedex 05, France

INTRODUCTION

Au cours de l'édification du jeune archégone, chez les Ptéridophytes leptosporangiées, la rangée axiale est le siège de deux mitoses gaméto-gènes successives. Celles-ci séparent l'oosphère, seule véritable cellule reproductrice, des cellules sécrétrices de mucilage. Ces dernières ont fait précédemment l'objet d'une étude détaillée de l'évolution de leurs infrastructures et de leur activité sécrétrice (91). Nous consacrons la présente étude à l'évolution infrastructurale de l'oosphère au cours de sa maturation, en insistant d'abord, ici, sur les structures nucléaires.

La maturation de l'oosphère s'étend sur une période qui va de sa mise en place jusqu'à la fécondation ou, en l'absence de celle-ci, au début de sa nécrose. Cette cellule ne représente, au départ, que la partie la plus profonde de la rangée axiale et ne se distingue des autres cellules que par sa position et par son volume plus important (Figure 1). Elle sera, au moment de la fécondation, la seule cellule survivante, isolée, baignant dans un mucilage riche en composés pectiques. Elle est aussi, chez les Fougères, la seule capable d'être fécondée bien qu'elle présente des analogies avec les cellules voisines de la rangée axiale en particulier celle de posséder, elle aussi, une activité sécrétrice mucilagineuse.

Au cours de sa période de maturation, l'oosphère va être le siège d'un certain nombre de modifications affectant sa structure interne, la densité et la répartition des organites au sein du cytoplasme et l'activité métabolique du noyau et du cytoplasme. Ces transformations vont conduire cette cellule de la *structure méristématique des stades précédents* à la *structure hautement différenciée d'un gamète femelle prêt à être fécondé*.

On peut distinguer deux périodes successives :

1) *une période de maturation obligatoire* caractérisée par l'accroissement général du volume de l'oosphère, la multiplication active des plastes et des mitochondries, la transformation de certaines mitochondries en

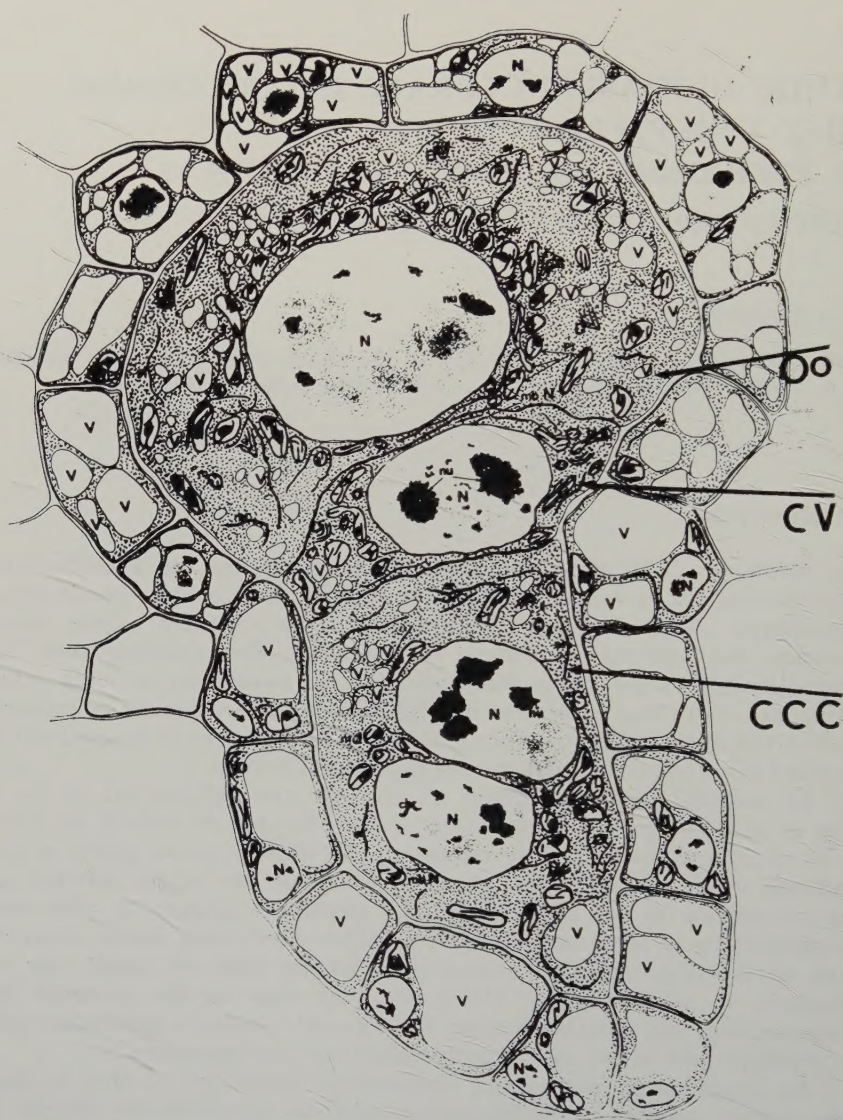


FIGURE 1. — Représentation schématique d'un jeune archégone à rangée axiale complète.

« disques », la déformation du noyau et la production de bourgeons nucléaires à la périphérie de celui-ci, enfin l'apparition d'un revêtement polyholosidique de la surface externe de l'oosphère. Cette période est précisément contemporaine de la sécrétion mucilagineuse des cellules du col ;

2) une période « d'attente » au terme de laquelle intervient la fécondation. Cette période est plus ou moins brève et peut, à la limite, ne pas exister lorsque la fécondation survient dès la fin de la phase précédente. Elle est généralement caractérisée par une légère diminution du volume cellulaire, l'accroissement des dépôts d'amidon dans les plastes, la déformation et l'empilement des mitochondries discoïdes et leur participation à l'édification des « complexes mitochondriaux ». Elle l'est aussi par la présence d'enclaves glucidiques intracytoplasmiques, la rupture de l'enveloppe des bourgeons nucléaires et la libération du contenu de ceux-ci dans le cytoplasme, enfin l'apparition des phénomènes lytiques dans certaines vésicules cytoplasmiques. Cette période est toujours postérieure à la phase sécrétrice des cellules du canal mais, par contre, contemporaine de l'ouverture du col. En l'absence de fécondation, les phénomènes lytiques amorcés durant cette période, en s'exaltant, entraînent la dégénérescence irréversible de l'oosphère.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Cette étude a été entreprise chez le *Pteridium aquilinum* (L.) Kühn (Fougère leptosporangée Hypolépidadécée). Les techniques d'obtention et de culture en conditions axéniques des gamétophytes de cette Fougère ont été précédemment décrites (87).

1. Méthodes classiques d'observation

Les prothalles femelles, dont on ne conserve que la région centrale du coussinet, sont découpés en tranches de 0,5 à 1 mm parallèlement à l'axe antéro-postérieur selon la technique de Bell et Mühlethaler (10). Ces fragments sont alors fixés au glutaraldéhyde en solution à 4,5 % dans du tampon cacodylate à pH 7,2 pendant 4 heures à 4 °C, puis postfixés par le tétraoxyde d'osmium à 2 % dans ce même tampon pendant 2 heures. Le matériel est déshydraté, puis inclus dans le « Durcupan ACM ». Après avoir vérifié, grâce à des coupes semi-fines, que le fragment contient un archégone présentant une orientation et une structure favorables, celui-ci est alors débité en coupes ultra-fines qui sont recueillies sur des grilles de cuivre et généralement contrastées grâce à une solution aqueuse saturée d'acétate d'uranyle, puis par le citrate de plomb selon Reynolds (71).

2. Extractions enzymatiques

a. Digestion des protéines

Nous avons utilisé, dans cette étude, la pronase. Cette substance, bien que mélange de plusieurs enzymes protéolytiques, a été préférée à la pepsine car elle peut être utilisée à un pH voisin de 7 alors que la seconde ne réagit bien qu'en milieu très acide, milieu qui peut provoquer par lui-même une hydrolyse qui ne serait pas spécifique. Nous l'avons utilisé selon les méthodes mentionnées par Monneron (65) et Monneron et Bernhard (66) en ne les appliquant toutefois qu'à des inclusions en « Epon » ou sur blocs de faible épaisseur après fixation par l'aldéhyde glutarique. La pronase a été utilisée en solution à 0,1 % à 40 °C durant une heure.

b. Digestion des acides nucléiques

Nous avons suivi les recommandations de Thomas et coll. (86) pour l'utilisation de ces enzymes. La digestion des acides désoxyribonucléiques a été obtenue par traitement des coupes de matériel inclus dans le mélange araldite-épon, par flottation sur une solution d'acide perchlorique à 5 % pendant une heure à 37 °C. Après rinçage, les coupes sont contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Nous avons tenté également de digérer sélectivement les acides nucléiques par des nucléases selon la technique préconisée par Monneron et Bernhard (66). La désoxyribonucléase et la ribonucléase ont été utilisées à cet effet en solution à 0,2 % en milieu neutre à 37 °C pendant des temps variant de 3 à 8 heures.

3. Autoradiographie

Cette technique a été utilisée en microscopie photonique et électronique pour étudier, avec le plus de précision possible, les sites d'incorporation d'un métabolite, donné et, par conséquent, pouvoir mettre en évidence une activité catalytique d'une région particulière du territoire cellulaire.

Le métabolite, marqué par le tritium dans le cas étudié ici, est ajouté au milieu de culture, pendant des temps allant de 2 à 4 heures. Le matériel est ensuite rincé puis transféré dans un milieu ayant même composition de base et contenant le même métabolite mais, alors, non marqué. Après un séjour, d'une durée de 2 heures environ, sur ce « milieu froid » le matériel est prélevé, fixé, inclus et découpé selon les techniques habituelles. La technique utilisée pour la localisation du métabolite incorporé est inspirée de celle de Caro et coll. (20). Les coupes fines sont recueillies sur grilles de cuivre ayant été au préalable recouvertes d'une membrane de formvar. Les grilles porte-objet sont fixées provisoirement par un petit fragment de ruban adhésif sur des lames de verre qui servent alors de support pratique pour la suite des manipulations.

L'émulsion (« Ilford L₄ » diluée de moitié) est ensuite déposée sur les préparations en chambre noire, grâce à un anneau de platine de 4 cm de diamètre. Celui-ci permet, lorsque la viscosité de l'émulsion est soigneusement ajustée par la température, de déposer une fine couche sensible à la surface des coupes.

Les préparations après séchage sont stockées à 4 °C en boîtes étanches, en présence de desséchant pendant des temps variant de quelques semaines à quelques mois (généralement 3 à 4 semaines).

Le développement des autoradiographies se fait dans le révélateur « Microdol X » pendant 5 à 6 minutes à 18 °C. Après fixation, rinçage et séchage, les grilles, détachées de leur support de verre, sont généralement contrastées au citrate de plomb pendant 2 à 3 minutes. Elles sont alors prêtes à l'examen.

OBSERVATIONS

A. Evolution des structures nucléaires au cours de la période de maturation

1. Généralités

Au cours de cette période, le volume général de l'oosphère, qui occupe toute la cavité ventrale de l'archégone et se trouve toujours étroitement accolée à sa paroi, croît de façon nette. Son diamètre passe de 20 à 26 µm,

en moyenne, mais peut parfois atteindre jusqu'à 30 μm . Le plus grand diamètre du noyau est voisin de 15 μm à 18 μm . L'oosphère est alors à peu près sphérique, sauf dans la partie située dans l'axe du canal du col, où apparaît une dépression à l'intérieur de laquelle s'encastre la cellule ventrale, plus petite. C'est au centre de cette zone déprimée que persistent longtemps des communications nettes entre cellule ventrale et oosphère. Au début de cette période de maturation, le contour du noyau de l'oosphère est assez régulier rappelant celui de la cellule centrale dont il est issu. Au contraire, la fin de cette période est marquée par la déformation du noyau avec apparition, dans les parties latérales de l'oosphère, de plusieurs digitations importantes, contemporaines d'un aplatissement général de celui-ci.

2. L'enveloppe nucléaire

La structure de l'enveloppe nucléaire est classique. Celle-ci est composée de deux membranes et percée de nombreux pores dont la densité passe, au cours de cette période de maturation, de 35 à 45 μm^2 environ (Pl. I, fig. *c*). Chaque pore est limité extérieurement par des petites masses sombres qui semblent être, généralement, au nombre de huit ou neuf ; le centre du pore est occupé par un grain sombre (Pl. I, fig. *d*). Le feuillet externe est, au début, fréquemment en continuité avec des profils appartenant au réticulum endoplasmique tandis que ce type de relation devient beaucoup plus rare en fin de période de maturation.

3. Le contenu nucléaire

Le contenu nucléaire apparaît toujours comme une plage claire aussi bien après la réaction nucléale de Feulgen qu'après utilisation de l'hématoxyline ferrique (Pl. I, fig. *b*). Cet aspect tranche nettement avec celui que prennent, après ces mêmes traitements, les noyaux prothalliens ou ceux qui appartiennent aux cellules de la paroi archégoniale. Au microscope électronique (Pl. I, fig. *a*), le nucléoplasme apparaît faiblement contrasté, mais toujours très hétérogène, parsemé çà et là de petites mottes ou de traînées plus sombres. L'hydrolyse des ADN aussi bien par l'ADNase que par l'acide trichloracétique à chaud ne donne que très peu de renseignements, compte tenu du très faible contraste présenté par la chromatine des oosphères témoins.

4. Le matériel nucléolaire

Contrastant avec le nucléoplasme clair, le matériel nucléolaire se présente parfois sous la forme d'un unique nucléole, mais le plus souvent en plusieurs masses nucléolaires distinctes. Ces masses sont toujours très denses, aux contours irréguliers et d'aspect spongieux rappelant, au début l'aspect du nucléole de la cellule centrale dont il est directement issu. On y distingue généralement des amas denses de forme irrégulière, de 0,3 à 0,4 μm de diamètre, et des cordons sombres plus étroits enchevêtrés ou grossièrement parallèles les uns aux autres, reliant plus ou moins clairement les amas entre eux. Ces cordons ménagent entre eux de nombreuses « cavités » de formes irrégulières, parfois très allongées, occupées par un nucléoplasme non différencié. Il semble qu'il

y ait, durant une courte période, une distribution symétrique du matériel nucléolaire non pas rayonnante, mais par rapport à un plan : les amas sombres se trouvant de part et d'autre de celui-ci tandis que les lames se rassemblent en majorité dans le plan (Pl. II, fig. *a* et *b*), lui-même préférentiellement orienté dans la cellule. Cependant de constants et rapides remaniements ne permettent pas de préciser s'il s'agit d'une véritable caractéristique de l'évolution nucléolaire, à ce stade. En effet, très rapidement les lames sombres tendent à se séparer des amas denses et se rassemblent dans la zone corticale des nucléoles (Pl. II, fig. *d*). Bien que l'existence de ces deux formations soit le plus souvent réellement décelable, la démarcation entre les deux zones n'est jamais bien précise.

Une autre caractéristique de cette évolution des nucléoles est l'apparition, dans leur couche périphérique, de petites masses que nous avons précédemment décrites (89) sous le terme de *micronucléoles*. Ces formations sont à peu près sphériques et ont de 0,2 à 0,3 μm de diamètre en moyenne (Pl. II, fig. *c* et *d*). Elles se distinguent par leur contraste différent et apparaissent finement granuleuses, constituées d'une agglomération de particules de 10 à 20 nm de diamètre distribuées elles-mêmes de façon hétérogène. L'examen attentif de certains clichés (Pl. III, fig. *a*) permet de supposer que ces particules sont disposées en hélices, formant une sorte de manchon autour d'un axe. Une attaque des structures micronucléolaires par l'ARNase laisse en place une trame plus claire mais granuleuse et parfois nettement spiralée (Pl. III, fig. *b*). Les micronucléoles, peu après leur formation, migrent vers la périphérie du nucléole qui leur a donné naissance et font saillie à leur surface. Ils s'en séparent ensuite et cheminent alors librement à travers le nucléoplasme pour finalement se diriger vers la périphérie de l'espace nucléaire, le long de la membrane interne. Au cours de leur déplacement certains d'entre eux subissent de légères modifications structurales : les uns conservent une structure dense, les autres en acquièrent une beaucoup plus lâche et moins contrastée. Vers la fin de la période de muration, les micronucléoles sont encore produits en grand nombre, mais désormais sous la *forme de petites sphères creuses*.

5. Les bourgeons nucléaires ou micronoyaux

C'est également au cours de cette période qu'apparaît et se développe un processus tout à fait caractéristique et particulier à cette oogenèse : la formation de bourgeons nucléaires ou « *micronoyaux* » à partir du noyau de l'oosphère. Il s'agit là d'un phénomène original et visible uniquement au microscope électronique, qui n'a été jusqu'alors décrit dans le règne végétal que chez quelques Bryophytes (31, 32, 33, 34, 35) et Ptéridophytes (10, 63, 88) mais dont le rôle a été, jusqu'ici, interprété de façon très différente selon les auteurs.

Ces bourgeons nucléaires naissent tous de la même façon. Une légère boursouffure de la surface nucléaire se transforme en une petite hernie plus ou moins sphérique (Pl. III, fig. *c*), parfois allongée, de 0,5 à 0,7 μm de diamètre moyen, reliée au noyau central par un étroit goulet à travers lequel la liaison avec le nucléoplasme principal est, un temps, conservée. Naturellement, selon le plan de coupe, ce goulet est visible ou non, mais il

existe réellement, comme permet de le constater l'examen de certaines coupes sériees.

En même temps que s'évagine cette hernie dans le cytoplasme qu'elle repousse, il apparaît sur la face intérieure de la membrane interne du micronoyau néoformé, un dépôt de *substance dense* qui n'existe pas dans le noyau-père, mais qui se trouve conservé, par la suite, dans tous les bourgeons nucléaires (Pl. III, fig. *c* et *d*). Nous ignorons encore la nature exacte de ce dépôt et son rôle éventuel. Nous avons toutefois remarqué que l'utilisation de la pronase, enzyme protéolytique qui éclaireit la zone périphérique du nucléoplasme, affaiblit considérablement le contraste de cette couche dense à l'intérieur des micronoyaux.

Il est possible de constater, lorsque le plan de coupe est favorable, qu'un micronucléole pénètre dans cette hernie soit au cours de sa formation, soit après celle-ci, par l'étroit goulet qui la retient encore au noyau. Cela concerne, au début de la période de maturation, les micronucléoles compacts et de petites tailles (Pl. III, fig. *c*) et, en fin de période, les micronucléoles plus volumineux et creux (Pl. IV, fig. *c*). Il n'y a pas de rapport rigoureux entre la taille des micronoyaux et celle des micronucléoles qu'ils renferment. En effet, le diamètre apparent des premiers est de deux fois à six fois supérieur à celui des seconds. Toutefois nous avons pu établir, à partir de nombreuses mesures effectuées, que la moyenne de ce rapport des diamètres est voisine de 3,3. La fréquence de la présence d'un micronucléole dans les micronoyaux a été estimée, à partir des documents dont nous disposons, à 3,4 (sur 264 micronoyaux examinés, 78 d'entre eux possèdent un micronucléole). Le rapport des diamètres micronucléoles/micronoyaux et la fréquence de leur présence sur les coupes étant très voisins, *on peut conclure que chaque micronoyau renferme un micronucléole*. Il est extrêmement rare d'en observer deux et plus, sauf dans certains bourgeons particulièrement allongés.

Bien que les techniques de microscopie électronique en rendent l'interprétation délicate, il semble bien que ces bourgeons nucléaires qui comprennent tous les éléments habituels d'un noyau (nucléoplasme, nucléole et membrane nucléaire) se détachent du noyau central. En effet la distance qui sépare certains bourgeons du noyau est parfois suffisamment grande pour ne pas devoir envisager la conservation d'un lien morphologique entre ces deux structures. Cependant, une partie d'entre eux demeure dans la zone circumnucléaire.

Cette production de micronoyaux, dont le début coïncide à peu près avec celui de la période de maturation, se poursuit durant toute celle-ci jusqu'à la fécondation et même au-delà. Ainsi le nombre des bourgeons, faible en début de période, augmente progressivement jusqu'à atteindre, dans le cytoplasme périnucléaire de l'oosphère prête à être fécondée, une *densité voisine de celle des mitochondries*. Les bourgeons se distinguent toutefois très nettement de ces dernières et aucune confusion ne peut être commise (Pl. III, fig. *d*) exception faite, peut-être, de certaines observations réalisées à partir de documents obtenus après fixation permanganique.

Ainsi, à la fin de la période de maturation, le matériel nucléaire de

l'oosphère se trouve réparti entre le noyau central et les micronoyaux disséminés dans le cytoplasme. Le volume de ces derniers représente, selon les estimations faites à partir de nombreux documents correspondant à cette période, le cinquième du volume nucléaire total.

B. Evolution des structures nucléaires de l'oosphère au cours de la seconde période et de la fécondation

Au cours de cette seconde période plus ou moins brève, la déformation du noyau s'accroît avec production de protubérances volumineuses dans les parties cytoplasmiques latérales. Cet aspect déformé et aplati du noyau sera conservé jusqu'au moment de la fécondation.

La masse nucléolaire est souvent fragmentée. Il continue à se former des micronucléoles, mais ceux-ci apparaissent désormais toujours sous la forme de petites sphères creuses qui ont alors l'aspect, sur les coupes, d'anneaux (Pl. IV, fig. c). Ces micronucléoles sont produits en grand nombre au sein même du nucléole dont la texture devient très lâche (Pl. IV, fig b). Ils ont le même destin que ceux formés lors de la période de maturation, c'est-à-dire qu'on les retrouve dans les micronoyaux qui se forment encore nombreux durant cette seconde période (Pl. V, fig. a) ou dans ceux, déjà isolés, qui migrent à travers le cytoplasme vers la périphérie de l'oosphère (Pl. V, fig. b et c).

Il convient de noter qu'au moment de la fécondation, lors de la caryogamie, le noyau femelle poursuit son émission de bourgeons nucléaires qui ont la même structure que dans l'œuf vierge et renferment toujours des micronucléoles creux. Toutefois ces micronoyaux ne paraissent jamais se réagréger entre eux ni avec le noyau diploïde et ce dernier ne provient que de la fusion du noyau mâle avec le noyau femelle principal.

Il est alors intéressant d'observer chez le zygote l'évolution des micronoyaux plus anciennement formés et que l'on retrouve désormais dans les couches cytoplasmiques éloignées du noyau. L'examen de nombreux clichés permet de reconstituer leur destinée, celle du moins qui apparaît la plus fréquente. On remarque en effet que la plupart ne conservent pas, alors, l'intégrité de leur enveloppe. Celle-ci subit en certains points — deux ou trois sur une même coupe — une altération des deux feuillets de l'enveloppe qui se rompent libérant ainsi le contenu du micronoyau. Il apparaît très souvent en leur sein des figures pseudo-membranaires comparables à des figures myéliniques (Pl. VI, fig. b et c).

Bien que nous ayons examiné de nombreux clichés, il nous est encore difficile de connaître avec certitude le sort réservé aux micronucléoles contenus dans les bourgeons nucléaires. Nous avons toutefois rencontré dans le cytoplasme de l'oosphère prête à être fécondée et dans celui de l'oosphère juste après la fécondation, des formations intracytoplasmiques granuleuses, non limitées par une membrane et présentant une ressemblance avec les micronucléoles (Pl. VI, fig. d). Il est donc logique de concevoir que les micronucléoles, tantôt sous une forme suffisamment compacte pour être reconnue, tantôt sous une forme plus « diluée », soient ainsi libérés dans le hyaloplasme. Le nucléole contribue ainsi

probablement à l'enrichissement du cytoplasme en ribosomes. D'ailleurs, on sait qu'il en constitue normalement la réserve et la région d'élaboration dans toute cellule.

C. Autoradiographie à haute résolution

L'adjonction d'un précurseur radioactif de l'ADN — la thymidine tritiée — dans le milieu de culture, montre que celui-ci est incorporé de façon très inégale dans les différentes cellules de la rangée axiale. Ainsi la cellule du canal incorpore généralement le métabolite en grande quantité dans son noyau. Chez l'oosphère l'incorporation du métabolite se partage entre le noyau et le cytoplasme mais cette dernière est quantitativement plus importante aussi bien pour des périodes courtes que d'autres beaucoup plus longues (Pl. VII).

A l'échelle des infrastructures, l'incorporation se fait essentiellement au niveau des plastes et des mitochondries (Pl. VIII, fig. *a* et *b*). Elle est, *par contre, faible au niveau du nucléoplasme*, du hyaloplasme et des formations membranaires telles que réticulum endoplasmique et Golgi. Elle est également pratiquement inexistante au niveau des micronoyaux formés ou en cours de formation (Pl. VIII, fig. *c*).

DISCUSSION

De l'analyse des événements dont le noyau est le siège, trois points particuliers ressortent et appellent quelques commentaires, ce sont :

- le caractère Feulgen-négatif du contenu nucléaire ;
- le comportement particulier du nucléole ;
- la formation de micronoyaux.

1. Le contenu nucléaire

La disparition des éléments nucléaires colorables par la réaction de Feulgen dans le noyau de la cellule reproductrice femelle au cours de sa maturation est un phénomène très général que l'on rencontre aussi bien chez les végétaux que chez les animaux. Il s'agit d'ailleurs très souvent, comme nous l'avons nous-même remarqué, non d'une disparition totale, mais d'un affaiblissement considérable de chromaticité de ces structures, ce qui concorde d'ailleurs parfaitement avec le faible contraste que présente le noyau reproducteur au microscope électronique. Ce phénomène a été interprété comme correspondant à une despiralisation poussée des structures habituellement chromatiques du noyau en relation avec leur activité synthétisante d'ARN. Il a été signalé dans le règne végétal chez certaines Ptéridophytes (10), chez des Bryophytes (5, 48), des Gymnospermes (18, 38, 86) et chez la plupart des Angiospermes étudiées à ce point de vue (53, 97, 99). Fait intéressant à remarquer ici, il en est de même au cours de la maturation de l'ovule de nombreuses espèces animales et, dans tous les cas signalés jusqu'ici, seule la cellule femelle fertile présente un tel phénomène (3, 14, 15, 16, 40, 55, 56, 57).

Des travaux, pour la plupart récents, mais en nombre encore limité,

ont montré que, parallèlement à l'appauvrissement des structures nucléaires, il y avait un enrichissement cytoplasmique en ADN. De tels faits ont été signalés précisément chez le *Pteridium aquilinum* (79, 80), mais aussi chez certaines Gymnospermes (24, 86) et Angiospermes (84, 100). Il en est de même dans l'œuf de certaines espèces animales particulièrement bien étudiées à ce point de vue comme l'Oursin (15) et certains Insectes (39). *Il s'agit donc d'un transfert de matériel génétique* qui se ferait, selon certains auteurs (6, 7, 8, 12, 13), au cours de la dernière mitose gamétogène, lorsqu'il n'y a plus de barrière membranaire entre les chromosomes et le cytoplasme et, selon d'autres (98), à travers les pores de la membrane nucléaire au cours de la maturation elle-même.

La détection de l'ADN en microscopie photonique, tant par la réaction de Feulgen que par les techniques cytophotométriques (79) a montré que celui-ci était essentiellement *localisé au niveau du cytoplasme* et en particulier dans la zone périnucléaire. Les techniques autoradiographiques à haute résolution ont largement confirmé ces faits en montrant en particulier que l'ADN qui a la plus forte activité d'incorporation était purement cytoplasmique chez l'oosphère. On peut certes penser que le noyau cède une partie de son ADN au cytoplasme, mais cette hypothèse, soutenue par Bell et Mühlethaler en 1964 a été infirmée par la suite, et en particulier par les observations de Charret et André (22), Sigee et Bell (79) et Sigee (78). On sait d'ailleurs que les ADN mitochondrial et plastidial qui se montrent ici les plus actifs ne sont pas de même nature que l'ADN nucléaire (28, 46, 67). Par ailleurs il convient de remarquer que l'absence de marquage de micronoyaux n'apporte aucun argument favorable ou défavorable à l'hypothèse d'un transfert d'ADN nucléaire vers le cytoplasme à la faveur précisément de ce bourgeonnement nucléaire.

Cette distribution de l'ADN nucléaire et cytoplasmique qui a été également retrouvée dans l'oosphère du *Marsilea vestita* (58, 92) est un phénomène qui apparaît général lors de l'oogenèse puisqu'il a été décrit un certain nombre de fois au cours de recherches portant sur les oocytes animaux (12, 13, 14, 55, 56). On peut facilement imaginer qu'un tel processus intervient également au cours de l'oogenèse chez les végétaux et en particulier chez les Ptéridophytes que nous envisageons ici.

2. Le matériel nucléolaire

Nous savons que le matériel nucléolaire est doué d'une grande plasticité et nous avons pu constater, à l'occasion de cette étude de l'oogenèse, que les aspects des nucléoles se sont plusieurs fois modifiés. Il est cependant bien connu que ces fluctuations morphologiques sont toujours en rapport avec des conditions physiologiques et des fonctions de synthèse particulières de la cellule.

Des observations concernant le matériel nucléolaire, nous retiendrons deux faits essentiels :

— la formation de « micronucléoles » et leur présence dans les « micronoyaux » ;

— le passage de matériel d'origine nucléolaire dans le cytoplasme.

Nous avons vu que le matériel nucléolaire se répartit, au cours de la maturation de l'oosphère, en masses distinctes : les nucléoles, qui présentent tous la même hétérogénéité de structure due à un enchevêtrement complexe d'amas granuleux et de cordons. Cette hétérogénéité et ce morcellement des nucléoles sont des faits communément signalés aussi bien dans les cellules somatiques des végétaux (11, 25, 61) que des animaux (70, 75). C'est, cependant, dans les cellules reproductrices femelles qu'ils ont été souvent remarqués et étudiés. En effet de façon parfaitement identique à celle que nous avons décrite chez le *Pteridium aquilinum*, la ségrégation de matériels granulaires et fibrillaires précède la formation de « micronucléoles » à la périphérie des masses nucléolaires, leur libération puis leur migration à l'intérieur du nucléoplasme comme l'ont montré Van Gansen et coll. (95), Favard-Séréno (37), Sanchez (74) et Gontcharoff (43), dans diverses espèces animales.

Cette formation de micronucléoles, déjà observée au microscope photomicroscopique chez les Bryophytes (48) et les Ptéridophytes (96), a été confirmée par des études récentes effectuées à l'aide du microscope électronique chez les Cormophytes (29, 30) et, dans le règne animal, chez de nombreuses espèces appartenant à des groupes parfois très éloignés phylogénétiquement comme les Vers (68), les Echinodermes (74), les Insectes (1, 37, 45, 47), les Crustacés (3), les Poissons (93, 102), les Amphibiens (27, 59, 62, 83, 95) et les Mammifères (103). Chez les végétaux, le passage de matériel d'origine nucléolaire dans le cytoplasme au cours de l'oogenèse que l'on nomme généralement « extrusion nucléolaire » et la constitution ou la présence de véritables nucléoles cytoplasmiques ne sont pas des faits constatés récemment. On trouve déjà exprimées de telles idées (21) dès 1906 à propos d'une Gymnosperme : le *Dioon*. Elles furent reprises depuis lors périodiquement par différents auteurs (101) et en particulier en ce qui concerne les Ptéridophytes sous forme d'hypothèse (96). Chez les animaux, des faits analogues ont été signalés (17, 36, 76) bien que cette extrusion nucléolaire n'ait toujours pas été admise par d'autres chercheurs (49, 82).

L'utilisation du microscope électronique a apporté confirmation de ce passage de matériel nucléolaire du noyau vers le cytoplasme et, en plus, des précisions importantes concernant les processus mêmes du transfert. Il semble donc que l'on puisse actuellement envisager trois processus distincts :

1° soit par passage de substances nucléolaires (plus ou moins associées à des protéines) à travers les pores de l'enveloppe nucléaire dans le cytoplasme où elles se dispersent (après avoir, dans certains cas, servi de « ciment intermitochondrial ») ;

2° soit par rupture de la membrane nucléaire et passage direct de substances nucléolaires du noyau dans le cytoplasme ;

3° soit par formation de bourgeons nucléaires contenant ces micronucléoles qui s'isolent du noyau central et gagnent les couches périphériques du cytoplasme où ils se désagrègent en libérant leur contenu.

Le premier procédé est de loin le plus fréquent. Il a été particulière-

ment étudié chez les animaux à la suite de travaux de J. André (2) dans les spermatocytes de Rats et de Gresson et Threadgold (45) dans l'ovocyte de la Blatte. On sait, l'importance que l'on attribue au nucléole dans les relations nucléocytoplasmiques et son rôle dans l'élaboration du matériel-support de la synthèse protéique.

Le second a été récemment décrit par Jaworska et coll. (51) chez l'*Insecte Acheta*.

Le troisième processus est celui qui intervient précisément chez le *Pteridium aquilinum* tel que nous l'avons décrit ici. C'est un mode de transfert qui apparaît beaucoup plus rare et n'a été signalé dans le règne végétal que chez certaines Hépatiques (31, 32) et par nous chez les Ptéridophytes leptosporangées (88). On peut toutefois le comparer à des faits similaires signalés dans le règne animal et en particulier dans des cellules reproductrices femelles d'un Insecte (47) et d'un Annélide Polychète (77) et quelques cellules somatiques (44) comme les cellules des glandes salivaires de larves de *Drosophile* (41) ou de Papillon (85), les cellules acineuses pancréatiques (26) et certains leucocytes (50).

3. Les micronoyaux

La formation des bourgeons nucléaires, dont on sait qu'elle existe chez de nombreuses espèces animales, a été observée de façon nette pour la première fois dans le règne végétal par Bell et Mühlethaler en 1962 (10) et précisément dans le matériel qui est l'objet de notre étude. Ce phénomène également connu chez certaines Algues (69), fut ensuite retrouvé chez d'autres Fougères (88) et des Hépatiques (31, 32, 34). Par contre il n'a pas été observé jusqu'ici chez les Mousses (5) ni chez les Equisétacées (60), les Marsiliacées (92) et les Sélaginellacées (72, 73). Aucune mention d'un tel phénomène n'a été faite au cours des études précises menées par Camefort (18, 19), Chesnoy (23), Gianordoli (42) et Audran (4) sur l'oosphère des Gymnospermes.

Cette formation des micronoyaux est, sans nul doute, le fait le plus remarquable et le plus particulier de l'oogenèse. Il y a, comme nous venons de le voir, par ce moyen, un transfert de matériel nucléolaire de son lieu de synthèse vers son lieu d'utilisation mais aussi transfert de nucléoplasme, d'enveloppe nucléaire et probablement de chromatine, par conséquent d'ADN. Il est possible que la fine couche de substances denses qui se dépose sur la face interne de la membrane nucléaire au moment où le bourgeonnement fait hernie dans le cytoplasme, soit un dépôt de protéine analogue à la « lamelle dense » décrite par Kalifat et coll. (54) identifiée depuis quelques années dans les cellules d'un bon nombre de tissus animaux et étudiés de façon précise par Stelly et coll. (81) chez la Sangsue.

Nous avons vu, par ailleurs, qu'en fin de maturation, la paroi des bourgeons nucléaires se rompt et que le matériel nucléaire paraît alors expulsé dans le cytoplasme. C'est du moins la conclusion logique qui peut être tirée des documents examinés correspondant à cette brève période. Nous retrouverons par la suite des amas denses de ribosomes dans le cytoplasme périphérique de l'œuf qui pourrait bien dériver des bourgeons

nucléaires. D'ailleurs certaines de ces observations que nous avons rapportées dans un exposé précédent (90), ont été retrouvées et confirmées par Jayasekera et Bell (52) et par Bell (9) aussi bien par des techniques autoradiographiques qu'en microscopie électronique.

L'utilisation de la RNase nous a permis de montrer que ces micronucléoles n'étaient pas seulement formés d'ARN mais aussi d'autres éléments, probablement des ribonucléoprotéines non dissoutes par cette enzyme.

Il se peut donc que le phénomène décrit ici corresponde à un transfert de précurseurs de ribosomes du noyau vers le cytoplasme par une voie un peu différente de celles les plus fréquemment utilisées au cours de l'oogenèse animale et des autres oogenèses végétales. Ce processus évoque en effet la formation des précurseurs de ribosomes qui a été observée dans les nucléoles extrachromosomiques d'oocytes animaux et que l'on retrouve ensuite dans les couches corticales de la cellule (64). Or, chez le *Pteridium*, les sous-unités micronucléolaires paraissent, du moins dans la mesure où il est possible de l'apprécier sur les micrographies, déjà reliées entre elles avant même leur expulsion du noyau. Ne peut-on dès lors émettre l'hypothèse qu'il s'agit d'une visualisation du fonctionnement de gènes nucléolaires débutant à l'intérieur du noyau pour s'achever au niveau du cytoplasme (Figure 2) ?

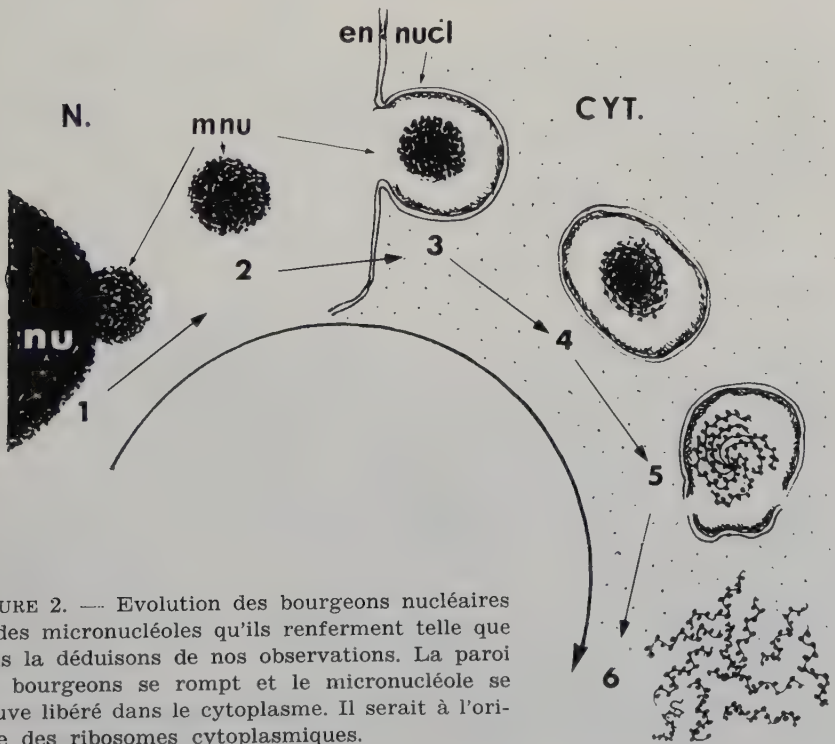


FIGURE 2. — Evolution des bourgeons nucléaires et des micronucléoles qu'ils renferment telle que nous la déduisons de nos observations. La paroi des bourgeons se rompt et le micronucléole se trouve libéré dans le cytoplasme. Il serait à l'origine des ribosomes cytoplasmiques.

Nous devons remarquer enfin que nous n'avons jamais constaté la transformation d'un bourgeon nucléaire ni en plaste ni en mitochondrie comme il ressort des observations de certains chercheurs dans ce même matériel. Ces formations nucléaires sont, à tous les stades de l'oogenèse, toujours très distinctes de ces deux catégories d'organites cytoplasmiques.

CONCLUSION

Au cours de cette étude de l'oogenèse d'une Ptéridophyte à l'échelle des infrastructures, nous avons pu constater que le comportement nucléaire du gamète femelle présente un certain nombre d'analogies avec des faits qui ont été observés au cours de l'oogenèse chez d'autres végétaux, mais aussi, et surtout, chez des espèces animales. Il en est ainsi du caractère Feulgen-négatif, du comportement de l'enveloppe nucléaire et des nucléoles. On est ainsi amené à constater qu'au regard de l'extraordinaire variété de l'expression phénotypique des êtres vivants, la gamétogenèse représente une séquence des cycles biologiques remarquablement homogène en ce qui concerne les structures et les infrastructures.

Cette étude nous a permis de retrouver le phénomène de bourgeonnement nucléaire décrit précédemment, chez cette espèce, par Bell et Mühlethaler (10). Nous avons toutefois donné une interprétation très différente à ce phénomène en le considérant comme la traduction à l'échelle infrastructurale d'un transfert vers le cytoplasme d'un matériel élaboré au niveau des nucléoles. Ce transfert qui s'effectue ici par l'intermédiaire d'un bourgeonnement centrifuge du noyau, représente l'une des trois modalités, connues à ce jour, que l'on considère comme responsable de l'enrichissement cytoplasmique en ribosomes et probablement de celui aussi en ADN.

Le noyau du zygote dérive cependant directement de la fusion des deux noyaux gamétiques sans participation directe de ces micronoyaux.

RÉSUMÉ

Le présent travail est consacré à l'étude des modifications infrastructurales que subit l'oosphère d'une Fougère au cours de sa maturation et en particulier aux événements nucléaires qui s'y produisent. Le noyau, dont le contenu apparaît toujours très clair au microscope électronique, possède plusieurs nucléoles de structure hétérogène. Des petites masses, finement granuleuses et partiellement résistantes à la ribonucléase, se différencient dans la zone externe des nucléoles, s'en détachent puis migrent librement à travers le nucléoplasme. Ces formations micronucléolaires pénètrent alors dans des boursoffures qui se forment à la périphérie du noyau. Ces bourgeons nucléaires ou « micronoyaux » ainsi formés et qui possèdent apparemment tous les éléments d'un noyau : enveloppe, nucléoplasme et nucléole, se détachent du noyau central. Au cours de leur migration à travers le cytoplasme oosphérien, les parois de ces micronoyaux s'altèrent, se rompent et leur contenu se trouve incorporé aux éléments cytoplasmiques. Ces micronoyaux demeurent cependant toujours distincts des plastes et de mitochondries et représentent un mode de transfert de ribonucléoprotéines du noyau vers le cytoplasme.

SUMMARY

The present investigation concerns ultrastructural modifications which occur during fern oogenesis and, in particular the nuclear events. The nucleus, which appears very clear with electron microscope, have several heterogenous nucleoli. Some small granular and partially ribonuclease resistant differentiate from peripheral nucleolar zone, separate and migrate through nucleoplasm. This micronucleolar formations penetrate them into some swellings which appear at the nuclear peripheral region. These nuclear buds or "micronuclei" which own all the fundamental components of a nucleus: nuclear envelope, nucleoplasm and nucleolus, separate from main nucleus. During cytoplasm migration, the micronucleolar envelopes break and internal substances mix with cytoplasmic components. These "micronuclei" always remain still separate from plastids and mitochondria and represent a kind of transport of ribonucleoproteins from nucleus to cytoplasm.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERSON E., 1969. Oogenesis in the cockroach *Periplaneta americana* with special reference to the specialisation of the colemma and the fate of coated vesicles. *J. Microscopie*, **8**, 721-738.
2. ANDRÉ J., 1962. Contribution à la connaissance du chondriome. *J. Ultr. Res.*, suppl. n° 3, 1-185.
3. ANTEUNIS A., FAUTREZ-FIRLEFYN N. et FAUTREZ J., 1968. Ultrastructure du nucléole expulsé dans le cytoplasme de l'oocyte d'*Artemia salina*. *C.R. Acad. Sc.*, **266**, 1862-1863.
4. AUDRAN J.C., 1971. Contribution à l'étude de la microsporogénèse chez les Cycadales : sur la présence de systèmes à fonctions autophagiques dans les cellules-mères primordiales durant leur phase de multiplication chez le *Ceratozamia mexicana* (Cycadacées). *Ann. Univer. et ARERS*, **9**, 106-121.
5. BARBIER C., 1972. Premières données ultrastructurales sur la différenciation de l'oosphère d'une Bryophyte le *Mnium undulatum*. *C.R. Acad. Sc.*, **274**, 3222-3225.
6. BELL P.R., 1960. Interaction of nucleus and cytoplasm during oogenesis in *Pteridium aquilinum* 1. *Proc. Roy. Soc. London*, **153**, 421-432.
7. BELL P.R., 1961. Failure of nucleotide to diffuse freely into the embryo of *Pteridium aquilinum*. *Nature*, London, **191**, 91-92.
8. BELL P.R., 1963. The cytochemical and ultrastructural peculiarities of the Fern egg. *J. Linn. Soc. London Bot.*, **58**, 353-359.
9. BELL P.R., 1972. Nucleocytoplasmic interaction in the egg of *Pteridium aquilinum* maturing in the presence of thiouracil. *J. Cell Sci.*, **II**, 739-755.
10. BELL P.R. et MÜHLETHALER K., 1962. The fine structure of the cells taking part in oogenesis in *Pteridium aquilinum*. *J. Ultr. Res.*, **7**, 462-466.
11. BIRNSTIEL M., 1967. The nucleolus in cell metabolism. *Ann. Rev. of Plant Physiology*, **18**, 25-58.

12. BRACHET J., 1965. Emission of Feulgen-positive particules during the *in vitro* maturation of toad ovocytes. *Nature*, **208**, 596-597.
13. BRACHET J., 1965. Emission de particules Feulgen positives dans le cytoplasme au cours de la maturation *in vitro* de l'oocyte de crapaud. *C.R. Acad. Sc.*, **261**, 1092-1094.
14. BRACHET J., 1965. Biologie cellulaire et biologie moléculaire. *Bull. Classe des Sciences Acad. roy. Belg.*, **51**, série 5, 1505-1519.
15. BRACHET J., 1966. L'énigme des acides désoxyribonucléiques (DNA) cytoplasmiques. *Scientia*, **101**, 1-6.
16. BRACHET J. et FICQ A., 1964. Détection cytochimique, au moyen d'actinomycine radioactive, de l'acide désoxyribonucléique (DNA) cytoplasmique de l'œuf des Batraciens. *C. R. Acad. Sc.*, **253**, 6258-6260.
17. CALDERWOOD W.L., 1892. Contribution to the knowledge of the ovary and intraovarian egg in teleosts. *J. Mar. Biol. Ar.*, **2**, 298.
18. CAMEFORT H., 1962. L'organisation du cytoplasme dans l'oosphère et la cellule centrale du *Pinus laricio*. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **12**, ser. 3, 265-291.
19. CAMEFORT H., 1965. L'organisation du photoplasme dans le gamète femelle ou oosphère du *Ginkgo biloba*. *J. Microscopie*, **4**, 531-546.
20. CARO L.G. et TUBERGEN R.P., 1962. High-resolution autoradiography; I : Methods. *J. Cell Biol.*, **15**, 173-188.
21. CHAMBERLAIN D., 1906. The ovule and female gametophyte of *Dioon*. *Bot. Gaz.*, **42**, 321-358.
22. CHARRET R. et ANDRÉ J., 1968. La synthèse de l'ADN mitochondrial chez *Tetrahymena pyriformis*. *J. Cell Biol.*, **39**, 369-381.
23. CHESNOY L., 1971. Etude cytologique des gamètes, de la fécondation et de la proembryogenèse chez le *Biota orientalis* Endl. Observations au microscope photonique et électronique. I. Le gamète femelle. *Rev. cyt. Biol. vég.*, **34**, 257-304.
24. CHESNOY L. et THOMAS M., 1969. Sur la présence de mitochondries Feulgen positives dans la zone périnucléaire du gamète femelle du *Pseudotsuga menziesii* ; étude cytochimique et ultrastructurale. *C. R. Acad. Sc.*, **268**, 55-58.
25. CHOUINARD L.A., 1966. Nucleolonema and pars amorpha in root meristematic cells of *Vicia faba*. *Can. J. Bot.*, **44**, 403-411.
26. CLARKE W.H., 1960. Electron microscope studies of nuclear extrusion in pancreatic acinar cells of the rat. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, 345-352.
27. CLÉROT J.C., 1968. Mise en évidence par cytochimie ultrastructurale de l'émission des protéines par le noyau d'auxocytes de Batraciens. *J. Microscopie*, **7**, 973-992.
28. CORNEO G., MOORE C., SANADI D.R., GROSSMAN C.I. et MARMUR J., 1966. Mitochondrial DNA in yeast and some mammalian species. *Science*, **151**, 687-697.
29. D'ALASCIO-DESCHAMPS R., 1972. Le sac embryonnaire du Lin après la fécondation. *Le Botaniste*, **55**, 273-286.

30. D'ALASCIO-DESCHAMPS R., 1973. Modifications ultrastructurales liées à la fécondation chez le Lin. *Bull. Soc. Fr., Mémoires, Coll. Morphologie*, 137-146.
31. DIERS L., 1965. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Eizellbildung und Eizellreifung des Lebermooses *Sphaerocarpus donnellii*. *Z. Naturforsch.*, **20**, 795-801.
32. DIERS L., 1965. Über die Vermehrung von Plastiden und Mitochondrien während der Oogenese von *Sphaerocarpus*. in "*Probleme der biologischen Reduplikation*", 227-243.
33. DIERS L., 1965. Elektronenmikroskopische Beobachtungen zur Archegoniumentwicklung des Lebermooses *Sphaerocarpus donnellii*. Die Entwicklung des junges Archegons bis zum Stadium der fertig ausgebildeten sekundären Zentralzelle. *Planta*, **66**, 165-190.
34. DIERS L., 1966. On the plastids, mitochondria and other cell constituents during oogenesis of a plant. *J. Cell Biol.*, **28**, 527-543.
35. DIERS L., 1970. Origin of plastids : cytological results and interpretation including some genetical aspects. in "Symposium of the Soc. for Exper. Biol." ; Control of organelle develop. Univ. Press.
36. EGGERT O., 1929. Entwicklung und Bau der Eier von *Salaria flavoumbunus*. *Zool. Anz.*, **83**, 241.
37. FAVARD-SÉRÉNO C., 1968. Evolution des structures nucléolaires au cours de la phase d'accroissement cytoplasmique chez le Grillon. *J. Microscopie*, **7**, 205-230.
38. FAVRE-DUCHARTRE M., 1956. Contribution à l'étude de la reproduction chez le *Ginkgo biloba*. *Rev. Cyt. Biol. Vég.*, **17**, 1-218.
39. FICQ A. et URBANI E., 1969. Cytological studies on the oogenesis of *Dytiscus marginalis* L., *Exper. Cell Res.*, **55**, 243-247.
40. FRANC A., 1951. Oogenèse et évolution nucléolaire chez les Gastéropodes prosobranches. *Ann. Sc. Nat.*, **II**, 135.
41. GAY H., 1956. Chromosome-nuclear membrane-cytoplasmic interrelations in *Drosophila*. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, 407-414.
42. GIANORDOLI M., 1970. Etude de l'ultrastructure de l'oosphère chez le *Taxus baccata*. *Ann. Univ. et ARERS*, **9**, 26.
43. GONTCHAROFF M., 1971. Etude des modifications ultrastructurales du nucléole au cours de l'ovogenèse de *Lineus ruber*. *C. R. Acad. Sc.*, **273**, 752-755.
44. GOURANTON J., 1969. L'enveloppe nucléaire. *Ann. Biol.*, **8**, 385-409.
45. GRESSON R. et THREADGOLD L., 1962. Extrusion of nuclear material during oogenesis in *Blatta orientalis*. *Quart. J. Micros. Sc.*, **102**, 141-145.
46. GUERINEAU M., GRANCHAMP C., YOTSUYANAGI Y. et SLOMINSKI P., 1968. Examen au microscope électronique du DNA mitochondrial de la levure : molécules circulaires. *C. R. Acad. Sc.*, **266**, 2000-2003.
47. GUPTA P.D., 1966. Histochemical studies of nucleolus and nuclear extrusion in Insect oogenesis. *Experientia*, Suisse, **22**, 374-375.
48. HAMANT C., 1954. Recherches cytologiques sur la reproduction chez quelques espèces du genre *Mnium*. Thèse Toulouse, Gomès ed.

49. HERTWIG G., 1929. Lebendige Hasse. *Möllendorff's Handb. Mikr. Anat. der Mensch.* I.
50. HUHN D., 1967. Nuclear packets in normal monocytes. *Nature*, **216**, 1240.
51. JAWORSKA H. et LIMA DE FARIA A., 1973. Amplification of ribosomal DNA. VII. Transfert of DNA-RNA assemblies from the nucleolus to cytoplasm. *Hereditas*, **74**, 187-204.
52. JAYASEKERA R.D. et BELL P.R., 1971. The synthesis and distribution of ribonucleic acid in developing archegonia of *Pteridium aquilinum*. *Planta*, **101**, 76-87.
53. JENSEN W.A., 1965. The ultrastructure and composition of the egg and central cell of cotton. *Amer. J. Bot.*, **52**, 781-797.
54. KALIFAT S.R. et DUPUY-COIN A.M., 1970. Etude cytochimique de la lamelle dense périnucléaire. in *Microscopie électronique*, Grenoble Congrès int. Favard ed. **III**, 229-230.
55. KESSEL R.G., 1968. An electron microscope study of differentiation and growth in oocyte of *Ophioderma panamensis*. *J. Ultr. Res.*, **22**, 63-89.
56. KESSEL R.G., 1969. Cytodifferentiation in the *Rana pipiens* oocyte. I. Association between mitochondria and nucleolus like bodies in young oocytes. *J. Ultr. Res.*, **28**, 61-77.
57. KESSEL R.G. et DECKER R.S., 1972. Cytodifferentiation in the *Rana pipiens* oocyte. V. Ultrastructural localization of acid phosphatase activity in diplotene oocytes and their associated follicle envelope. *J. Microscopie*, **14**, 169-182.
58. KULIGOWSKI-ANDRES J.E., 1974. Contribution à l'étude d'une Fougère, le *Marsilea vestita*, du stade embryon au stade sporophyte adulte. *Thèse Paris* (en préparation).
59. LANE H., 1967. Spheroidal and ring nucleoli in amphibian oocytes. Patterns of uridine incorporation and fine structural features. *J. Cell Biol.*, **35**, 421-434.
60. LAROCHE J., 1968. Contribution à l'étude de l'*Equisetum arvense* L. *Thèse Paris*.
61. LORD A. et LAFONTAINE J.G., 1969. The organisation of the nucleolus in meristematic plant cells ; a cytochemical study. *J. Cell Biol.*, **40**, 363-647.
62. MASSEVER W.H., 1968. Cytoplasmic cylinders in Bullfrog oocytes. *J. Ultr. Res.*, **22**, 159-167.
63. MENKE W. et FRICKE B., 1964. Beobachtungen über die Entwicklung der Archegonium von *Dryopteris filix mas*. *Z. Naturforsch B.*, **19**, 520-524.
64. MILLER J.R. et BEATTY J., 1969. Visualisation of nuclear genes. *Science*, **164**, 955-957.
65. MONNERON A., 1966. Utilisation de la pronase en cytochimie ultra-structurale. *J. Microscopie*, **5**, 583-596.
66. MONNERON A. et BERNHARD W., 1966. Action de certains enzymes sur des tissus inclus en epon. *J. Microscopie*, **5**, 697-714.

67. MOUNOLOU J.C., JAKOB H. et SLONIMSKI P., 1966. Mitochondrial DNA from yeast "petite" mutants specific changes of buoyant density corresponding to different cytoplasmic mutations. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **24**, 218.
68. NØRREVANG A., 1965. Oogenesis in *Priapulus caudatus* Lamark. An electron microscopical study correlated with light microscopical and histochemical findings. *Vidensh. Med. Dansk Natur.*, **128**, 1-75.
69. PUISEUX-DAO S., 1970. *Acetabularia* and cell Biology. Logos Press, London.
70. RECHER L., WHITESCARVER J. et BRIGGS L., 1969. The fine structure of nucleolar constituent. *J. Ultr. Res.*, **29**, 1-14.
71. REYNOLDS E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **17**, 208.
72. ROBERT D., 1969. Evolution de quelques organites cytoplasmiques au cours de la maturation de l'oosphère de *Selaginella kraussiana*. *C. R. Acad. Sc.*, **268**, 2775-2778.
73. ROBERT D., 1971. Nouvelle contribution à l'étude de l'origine des parois microsporales chez le *Selaginella kraussiana*. *C. R. Acad. Sc.*, **272**, 385-388.
74. SANCHEZ S., 1970. Mode de formation, ultrastructure et nature chimique de micronucléoles d'un type particulier au cours de l'ovogenèse de *Paracentrotus lividus* (Echinodermes). *C. R. Acad. Sc.*, **270**, 828-830.
75. SAUZIN M.J., 1968. Présence d'émissions nucléaires dans les cellules différenciées et en différenciation de la Planaire adulte. *C. R. Acad. Sc.*, **267**, 1146-1148.
76. SCHARFF A.F., 1888. On the ovarian egg of some osseus fishes. *Quart. J. Micr. Sc.*, **58**, 53.
77. SICHEL G., 1966. Sulla ultrastruttura dei pori dell involucro nuclear. *La cellule*, **46**, 95-106.
78. SIGEE D.C., 1972. Pattern of cytoplasmic DNA synthesis in somatic cells of *Pteridium aquilinum*. *Exper. Res.*, **73**, 481-486.
79. SIGEE D.C. et BELL P.R., 1968. Deoxyribonucleic acid in the cytoplasm of the female reproductive cells of *Pteridium aquilinum*. *Exper. Cell Res.*, **49**, 105-115.
80. SIGEE D.C. et BELL P.R., 1971. The cytoplasmic incorporation of tritiated thymidine during oogenesis in *Pteridium aquilinum*. *J. Cell Sci.*, **8**, 467-487.
81. STELLY N., STEVENS B.J. et ANDRÉ J., 1970. Etude cytochimique de la lamelle dense de l'enveloppe nucléaire. *J. Microscopie*, **9**, n° 8, 1015-1028.
82. STIEVE H., 1920. Die Entwicklung der Keimzellen des *Grottenolus*. *Arch. Mikr. Anat.*, **95**, 167.
83. TAKAMOTO T., 1966. Ultrastructural transport mechanism of messenger ribonucleic acid in the young oocytes of amphibians. *Nature*, **211**, 772-773.

84. TAKATS S.T., 1959. Chromatin extrusion and DNA transfer during microsporogenesis. *Chromosoma*, **10**, 430-453.
85. TASHIRO Y., MATSOURA S., MORINOTO T. et NAGATO S., 1968. Extrusion of nuclear materials into cytoplasm in the posterior silk gland cells of silkworm *Bombyx mori*. *J. Cell Biol.*, **36**, 605-610.
86. THOMAS M. et CHESNOY L., 1969. Observations relatives aux mitochondries Feulgen positives de la zone périnucléaire de l'oosphère du *Pseudotsuga menziesii*. *Rev. Cyt. Biol. Vég.*, **32**, 165-182.
87. TOURTE Y., 1967. Contribution à l'étude de la sexualité d'une Fougère leptosporangée en culture pure. *Rev. Gen. Bot.*, **74**, 197-223.
88. TOURTE Y., 1968. Observations sur le comportement du noyau, des plastes et des mitochondries au cours de la maturation de l'oosphère du *Pteridium aquilinum* L. *C. R. Acad. Sc.*, **266**, 2324-2326.
89. TOURTE Y., 1970. Evolution des structures nucléolaires au cours de la gamétogenèse femelle du *Pteridium aquilinum* L. *Bull. Soc. Bot., Fr.*, **117**, 199-208.
90. TOURTE Y., 1972. Quelques problèmes cytologiques de la gamétogenèse chez les Fougères. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, **119**, 353-362.
91. TOURTE Y., 1972. Les sécrétions mucilagineuses dans l'organe reproducteur femelle d'une Fougère : étude infrastructurale. *J. Microscopie*, **15**, 377-394.
92. TOURTE Y., ANDRES-KULIGOWSKI J. et SOSSOUNTZOV L., 1971. Quelques aspects de l'oogenèse chez le *Marsilea vestita*. *Ann. Univ. et ARERS*, **9**, 5-11.
93. ULRICH E., 1969. Etude des ultrastructures au cours de l'ovogenèse d'un poisson téléostéen le Danio, *Brachydanio rerio* H.B. *J. Microscopie*, **8**, n° 4, 447-478.
94. VAN GANSEN P. et BOULOUKERE-PRESBURG M., 1965. Ultrastructure de l'algue unicellulaire *Acetabularia mediterranea* (chloroplastes, ribosomes et noyau). *J. Microscopie*, **4**, 347-362.
95. VAN GANSEN P. et SCHRAM A., 1968. Ultrastructure et cytochimie ultrastructurale de la vésicule germinative et du cytoplasme périnucléaire de l'oocyte mûr de *Xenopus laevis*. *J. embry. exper. Morph.*, **20**, 375-389.
96. VAZART J., 1956. Etude cytologique de la reproduction sexuée chez quelques Ptéridophytes. *Rev. Cyt. Biol. vég.*, **17**, 263-402 (thèse, Paris).
97. VAZART B., 1958. Différenciation des cellules sexuelles et fécondation chez les Phanérogames. *Protoplasmatologia*, **7**, 1-158.
98. VAZART B., 1963. Différenciation des cellules sexuelles et fécondation chez les Cryptogames. *Protoplasmatologia*, **7**, 1-363.
99. WOODCOCK C.L. et BELL P.R., 1968. Features of the ultrastructure of the female gametophyte of *Myosurus minimus*. *J. Ultr. Res.*, **22**, 546-563.
100. WOODCOCK C.L. et BELL P.R., 1968. The distribution of deoxyribonucleic acid in the female gametophyte of *Myosurus minimus*. *Histochem. Dtsch.*, **12**, 289-301.

101. YASUI K., 1941. On the extrusion of nuclear granules and their reversible swelling in the cytoplasm. *Cytologia*, **12**, 83-85.
102. ZAHND J.P. et PORTE A., 1966. Signes morphologiques de transfert de matériel nucléaire dans le cytoplasme des ovocytes de certaines espèces de poissons. *C. R. Acad. Sc.*, **263**, 1977-1978.
103. ZAMBONI L. et GONDOS B., 1968. Intercellular bridges and synchronisation of germ cell differentiation during oogenesis in the rabbit. *J. Cell Biol.*, **36**, 276-282.

Manuscrit reçu le 17 juin 1974.

Abréviations utilisées sur les planches

CCC, cellule du canal du col
CV, cellule ventrale
M, mitochondrie
mn, micronucléole

N, noyau
Oo, oosphère
Pl, plaste
V, vacuole

Planche I

Fig. a. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Vue partielle d'une jeune oosphère peu après la dernière mitose gamétogène. L'enveloppe nucléaire ne présente encore aucune boursouffure. Les nucléoles hétérogènes et granuleux sont creusés de cavités claires et on trouve déjà quelques micronucléoles dans le nucléoplasme clair. Les profils courts du réticulum endoplasmique, les plastes et les mitochondries sont réparties de façon homogène dans toute la couche cytoplasmique ; $\times 7\ 000$.

Fig. b. — (Microscopie photonique - Glut. Os. - hématoxyline). Oosphère en cours de maturation. Le noyau de l'oosphère apparaît nettement moins chromatique que ceux des cellules de la paroi ventrale de l'archégone. La cellule centrale (*CV*) est en cours de sécrétion ; $\times 2\ 000$.

Fig. c. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Coupe tangentielle au noyau montrant de larges portions de la surface externe de celui-ci. On peut ainsi déterminer la densité en pores ; $\times 20\ 000$.

Fig. d. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Détails d'un pore de la paroi nucléaire. On distingue le granule central et les huit granules périphériques ; $\times 160\ 000$.

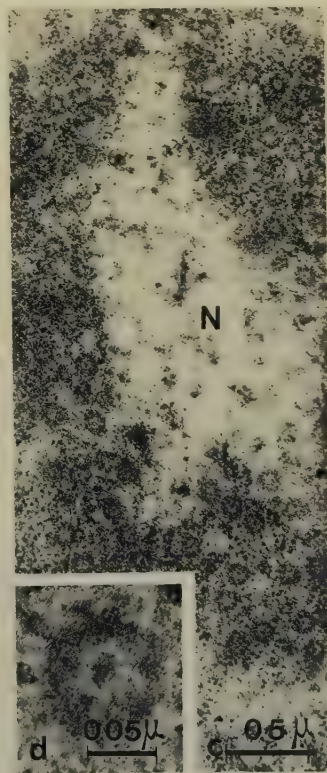
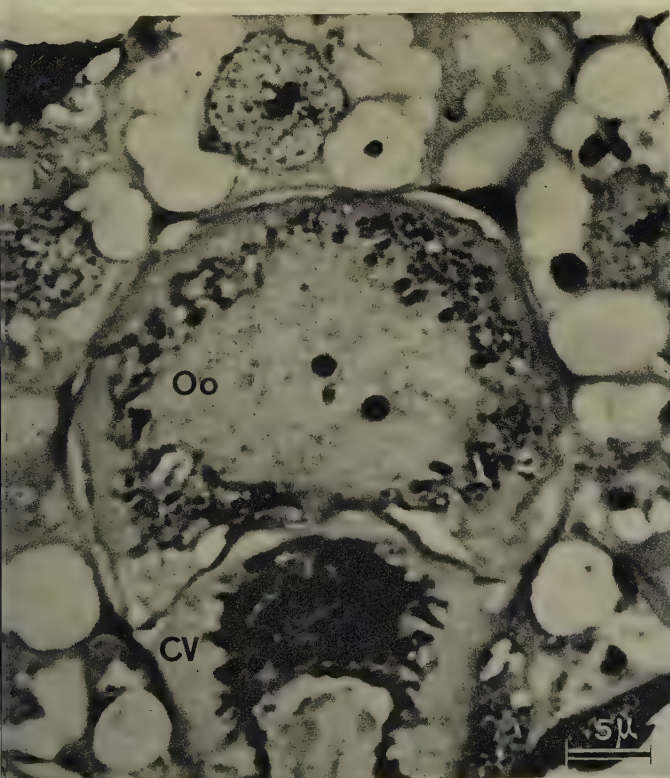
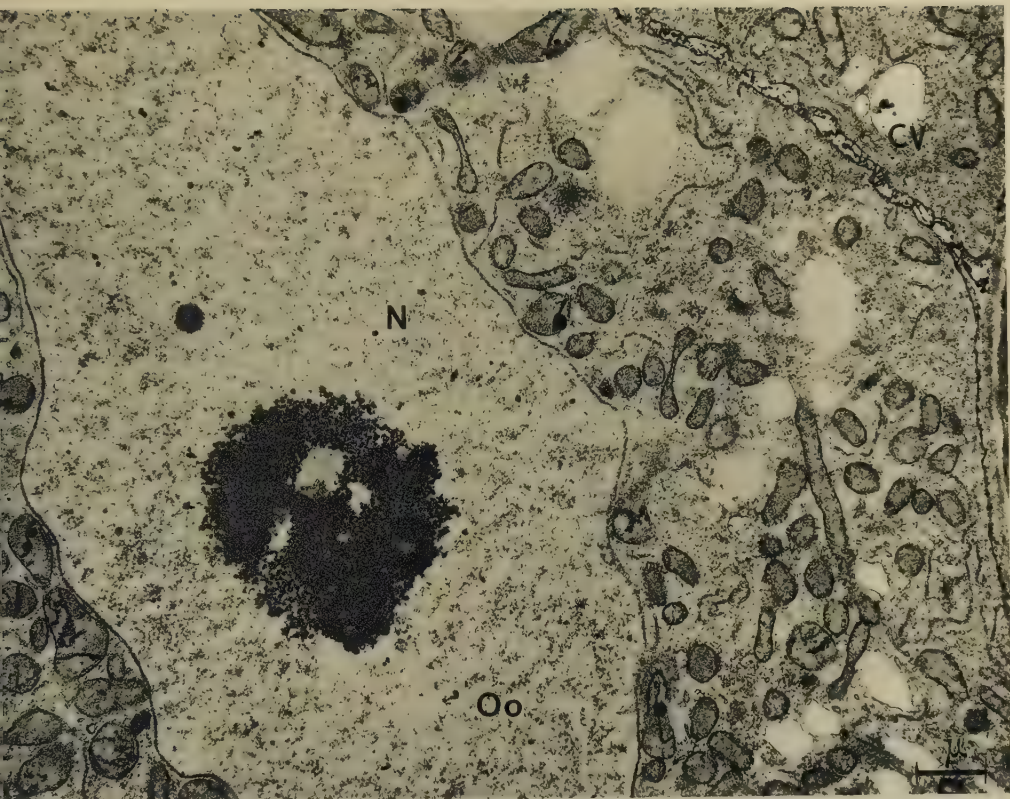


Planche II

Fig. a et b. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Au début de la période de maturation chaque nucléole est constitué d'un amas dense et de cordons plus ou moins bien individualisés ; $\times 19\ 000$.

Fig. c. — (Glut. Os - AcU-Pb). On voit bientôt apparaître, à la périphérie des nucléoles, des formations finement granuleuses : les micronucléoles ; $\times 52\ 000$.

Fig. d. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Ces micronucléoles ont un contraste nettement différent des zones nucléolaires au sein desquelles ils sont formés ; $\times 30\ 000$.

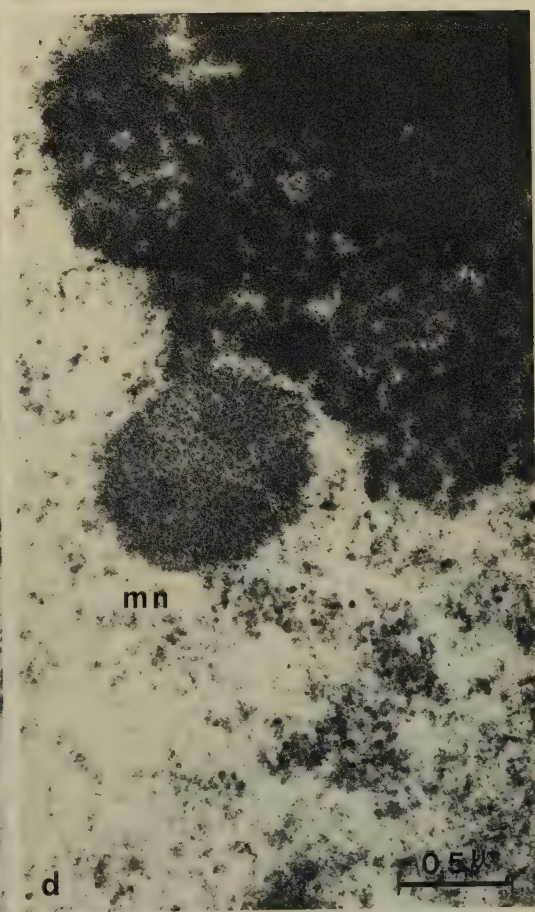
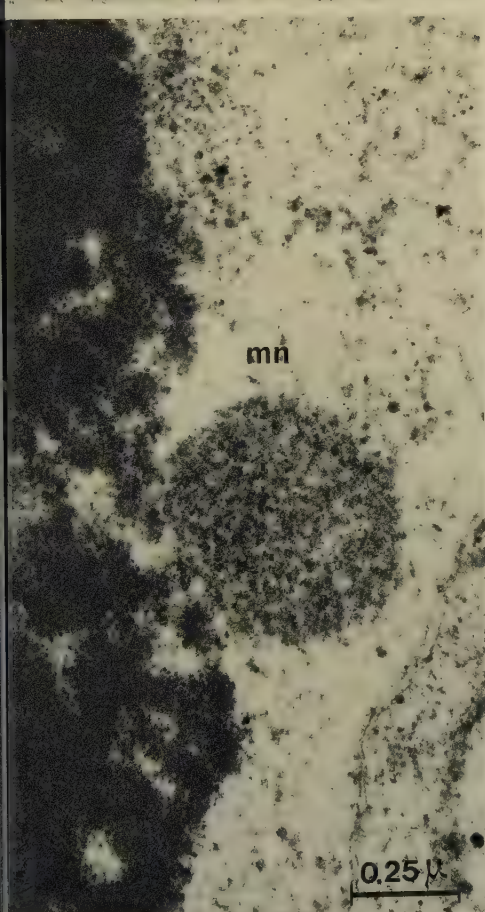
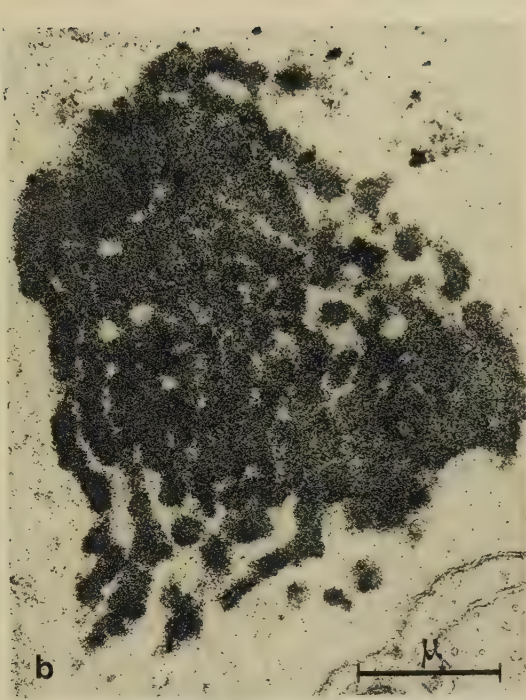
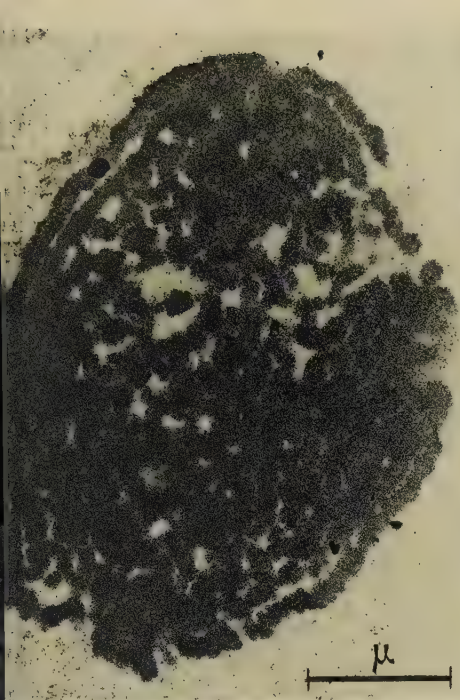


Planche III

Fig. a. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Structure d'un micronucléole à fort grossissement. Il est formé de petites granulations disposées sous forme de manchons cylindriques autour d'un axe. Cet aspect rappelle celui des polysomes rencontrés dans le cytoplasme ; $\times 73\ 000$.

Fig. b. — (Glut. Os. ARNase - AcU-Pb). Après traitement par la ribonucléase, une trame claire, finement granuleuse et parfois nettement spiralée, persiste ; $\times 48\ 000$.

Fig. c. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Ces micronucléoles pénètrent dans des boursoffures de l'enveloppe nucléaire pour former les « micronoyaux » ; $\times 40\ 000$.

Fig. d. — (Glut. Os. - AcU-Pb). On reconnaît ainsi, à côté du noyau central, des micronoyaux (↗) contenant chacun un micronucléole et qui se distinguent nettement des plastes et des mitochondries ; $\times 14\ 000$.

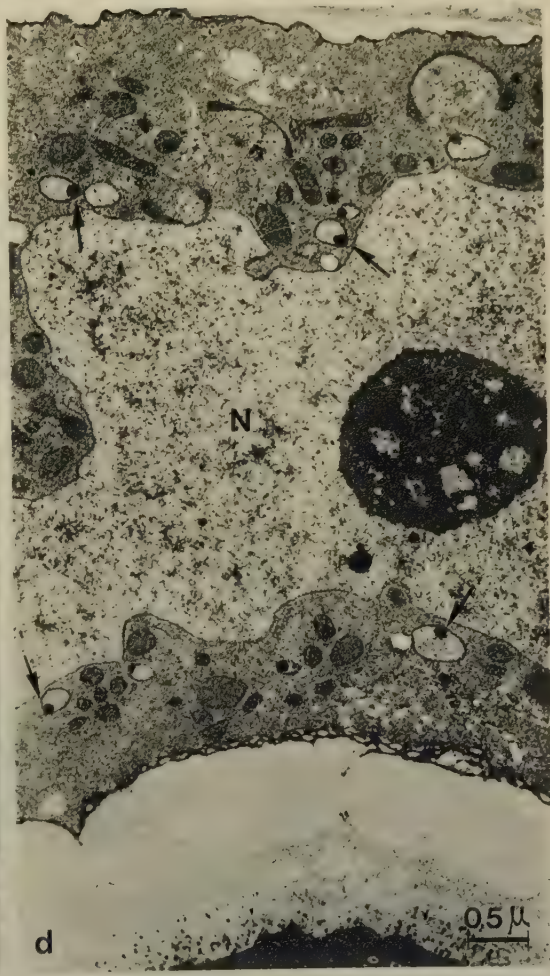
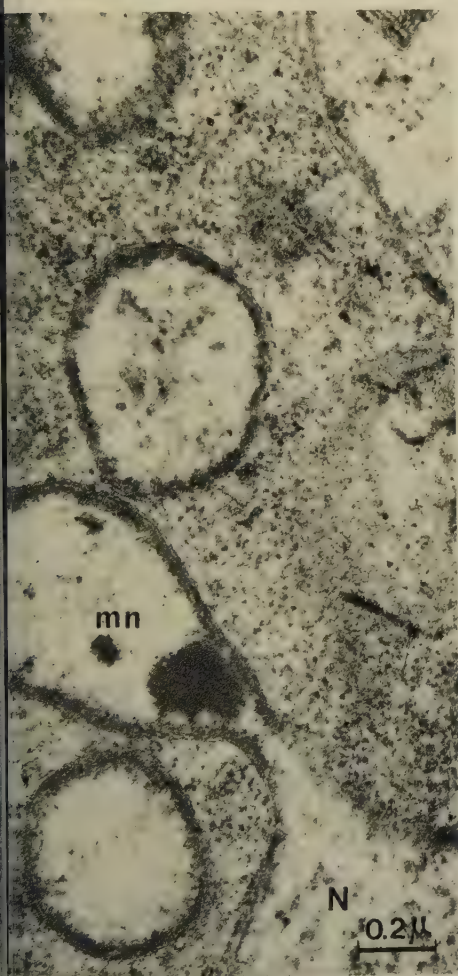
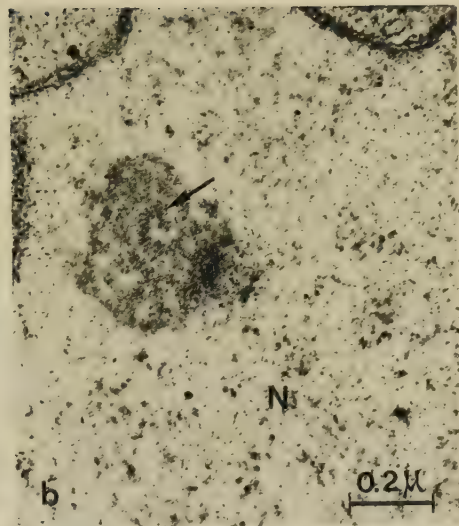
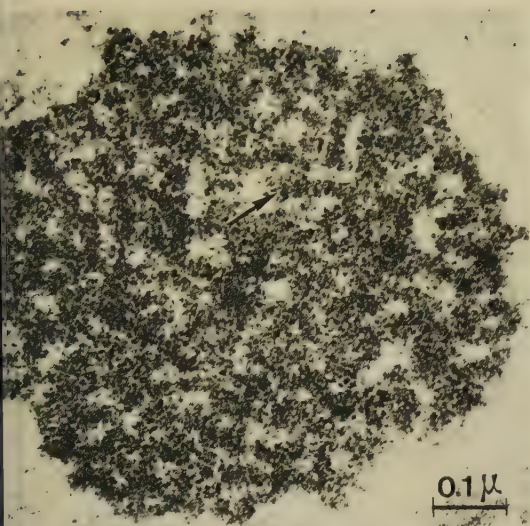


Planche IV. — Oosphère en fin de période de maturation.

Fig. a. — (KMnO_4 - AcU-Pb). Vue générale d'une section d'oosphère au cours de la période d'attente peu avant la fécondation. La « paroi spéciale » est en place. Le noyau est nettement déformé, émettant de grandes protubérances dans les couches cytoplasmiques latérales. L'enveloppe nucléaire produit de nombreux micronoyaux ; $\times 5\,000$.

Fig. b. — (Glut. Os. - AcU-Pb). A ce stade, le nucléole accentue son aspect hétérogène avec apparition de très nombreuses enclaves de nucléoplasme. On trouve dans celles-ci des micronucléoles qui ont alors le plus souvent la structure d'une sphère creuse ; $\times 9\,000$.

Fig. c. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Les micronucléoles creux sont expulsés en grand nombre dans le nucléoplasme ; $\times 24\,000$.

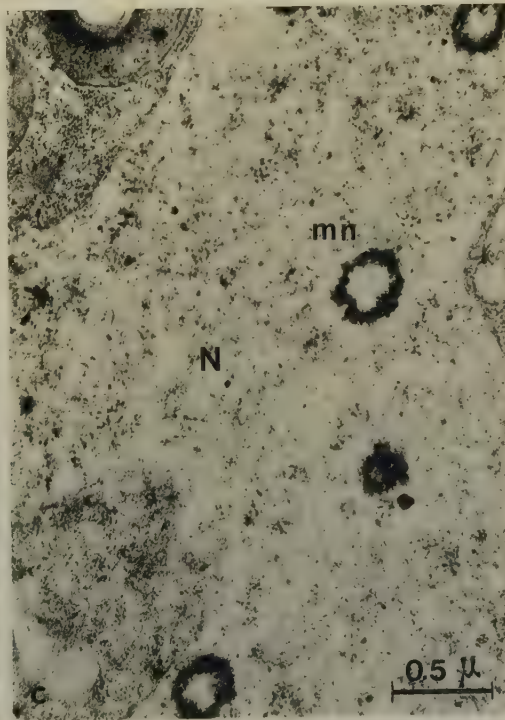
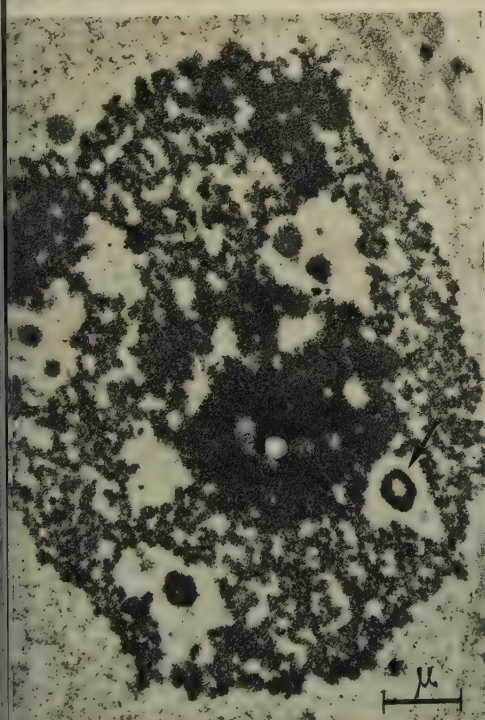
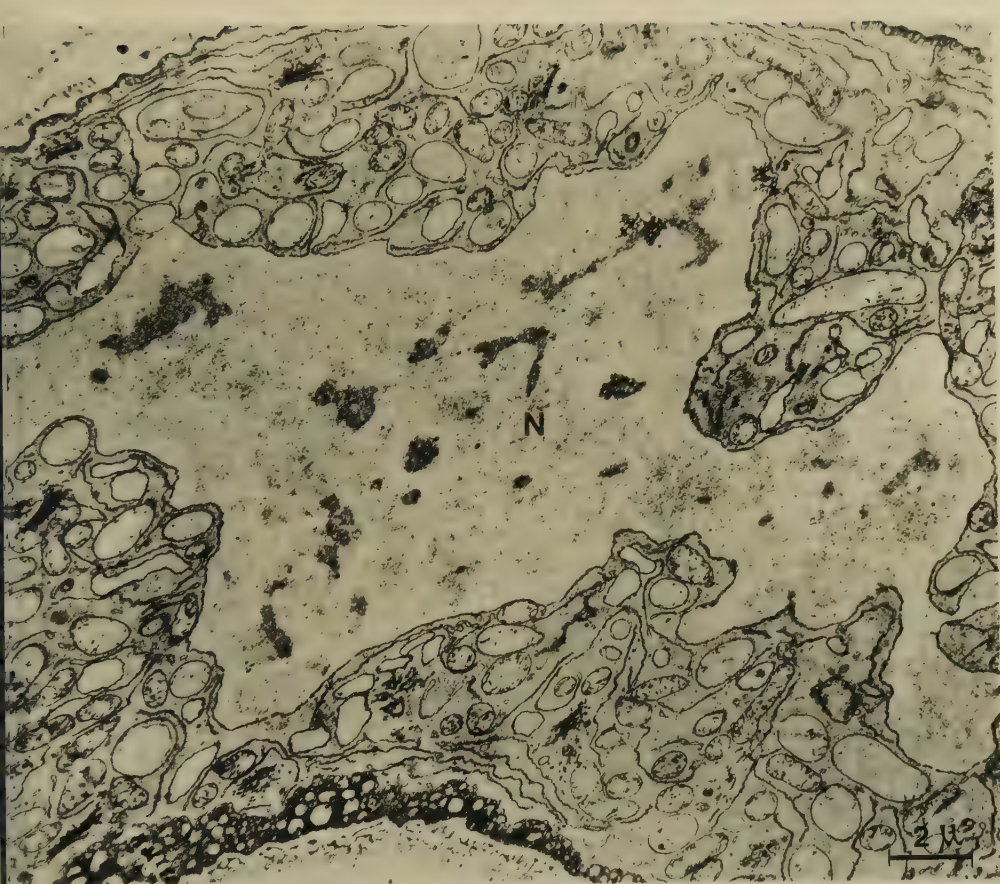


Planche V. — Formation des micronoyaux au cours de la seconde période.

Fig. a. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Comme lors de la période de maturation, il se forme encore de nombreux micronoyaux renfermant alors *toujours des micro-nucléoles creux* ; $\times 35\ 000$.

Fig. b et c. — (Glut. Os. - AcU-Pb). On retrouve ensuite ces formations micro-nucléolaires plus ou moins éloignées du noyau central ; *fig. b*, $\times 30\ 000$; *fig. c*, $\times 32\ 000$.

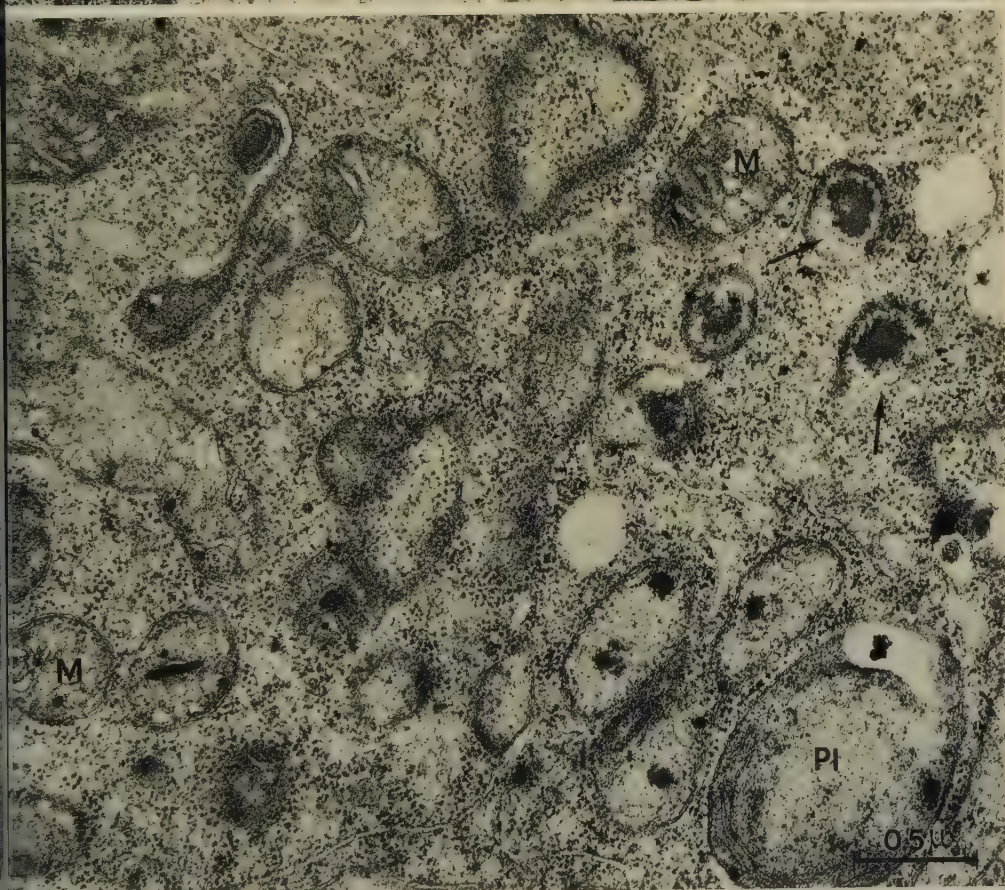
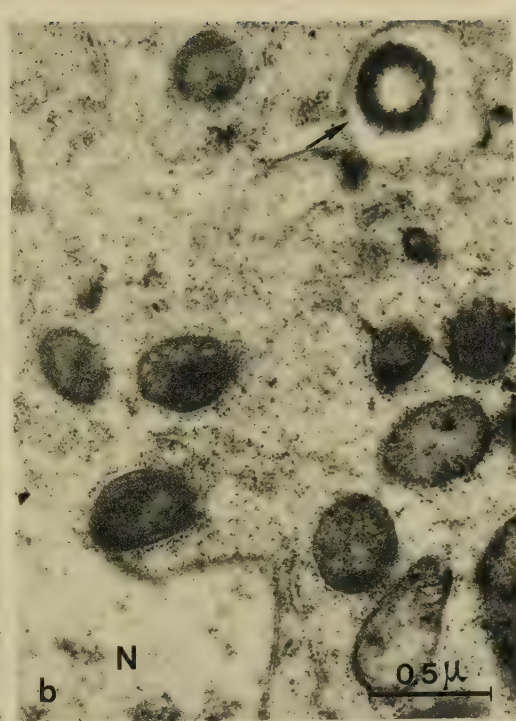
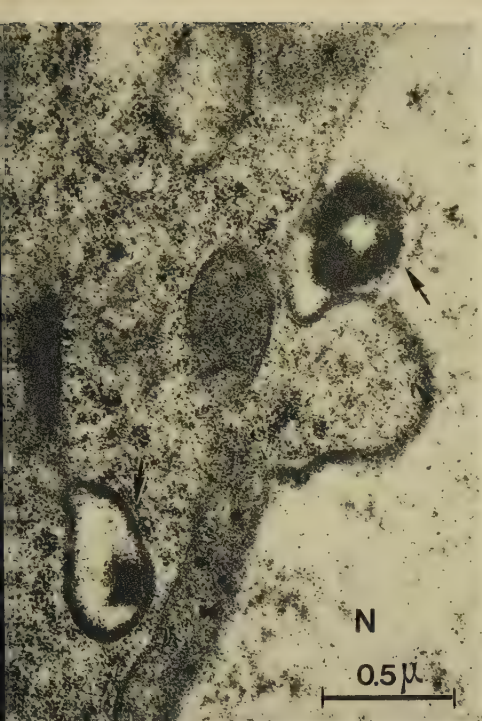


Planche VI. — Evolution des micronoyaux dans le cytoplasme de l'oosphère prête à être fécondée.

Fig. a. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Les micronoyaux sont nombreux et dispersés parmi les plastes et les mitochondries dont ils se distinguent toujours très nettement. On remarque cependant que certains de ces micronoyaux, dont la paroi n'est plus intacte, sont envahis par des formations de type myélinique ; $\times 21\ 000$.

Fig. b. — Détail, à plus fort grossissement du cliché précédent. La flèche indique le point de faiblesse de l'enveloppe qui est toujours doublée d'une couche sombre ; $\times 68\ 000$.

Fig. c. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Micronoyaux en cours de lyse ; l'intérieur du micronoyau est envahi par des structures pseudo-membranaires ayant l'aspect de corps myéliniques ; $\times 64\ 000$.

Fig. d. — (Glut. Os. - AcU-Pb). Formation rencontrée dans le cytoplasme périphérique de l'oosphère et qui rappelle la structure d'un micronucléole ; $\times 45\ 000$.

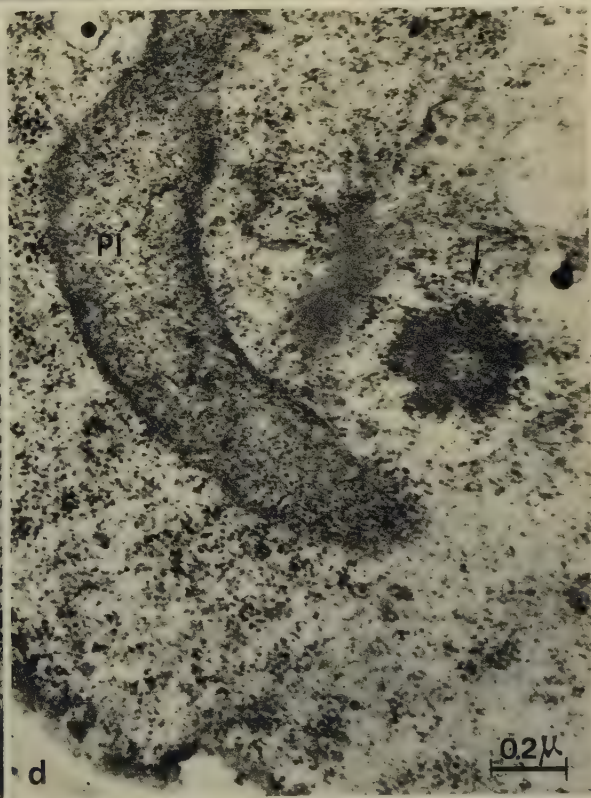
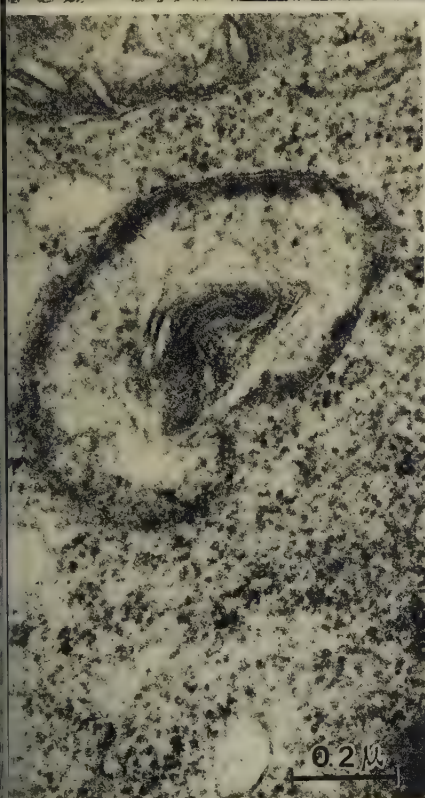
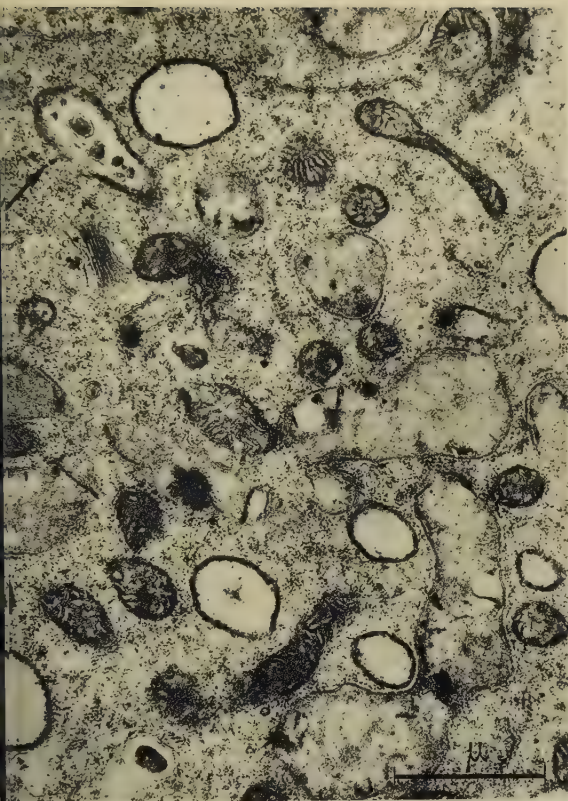


Planche VII

Autoradiographie d'un jeune archégone après incorporation de thymidine H_3^+ ($20 \mu Ci/ml$) pendant 4 h, postmétabolisation 2 h (Glut. Os. - AcU - émulsion Ilford L₄). Coupe axiale d'un jeune archégone. On constate que, dans l'oosphère, le métabolite précurseur de l'ADN s'est incorporé au niveau du cytoplasme et du noyau alors que dans la cellule du canal du col, celui-ci s'est essentiellement concentré dans le noyau (qui présente donc une forte activité de synthèse). Seule l'oosphère subsiste en fin d'évolution tandis que la cellule du canal du col est détruite en sécrétant une grande quantité de mucilage ;
 $\times 4\,500$.

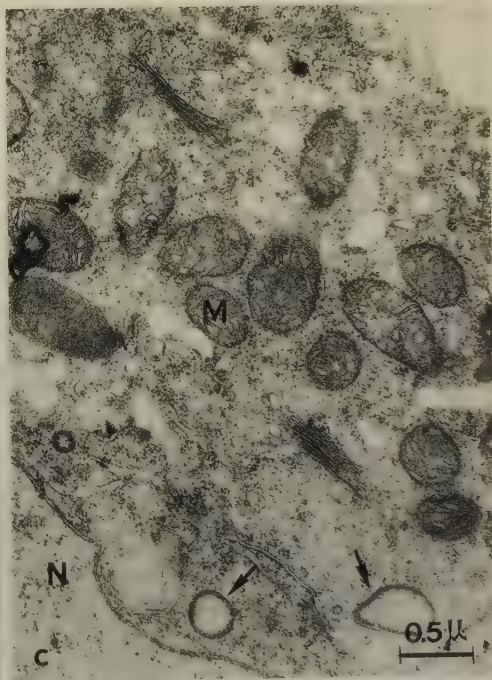
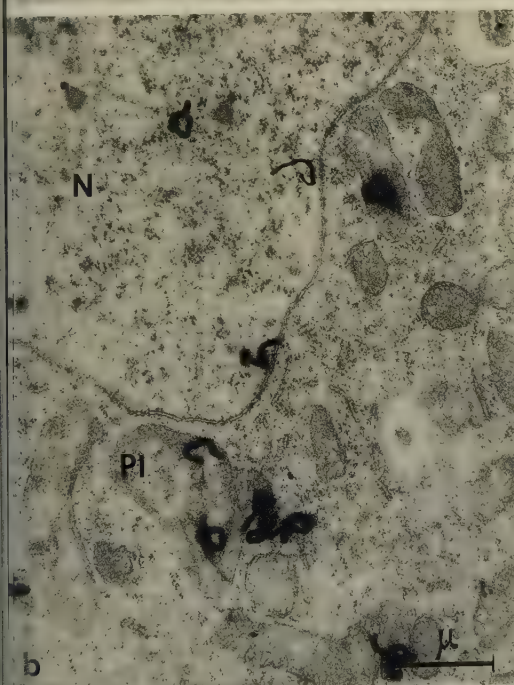
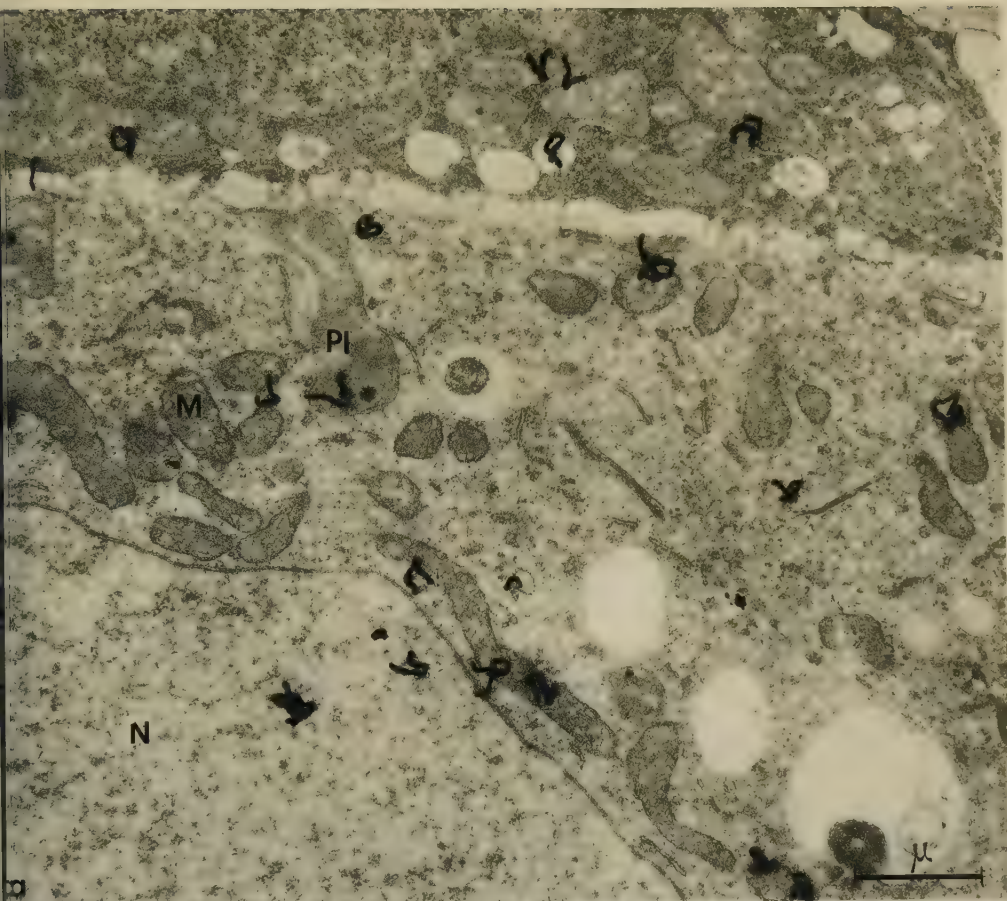


Planche VIII. — Incorporation de la thymidine H_3^+ dans l'oosphère (20 μ Ci/ml 4 h, postmétabolisation 2 h Glut. Os. - AcU - émulsion Ilford L₄).

Fig. a. — Portion d'une jeune oosphère. Le métabolite s'incorpore au niveau du noyau et du cytoplasme. Le marquage correspond le plus souvent à des profils de plastes et de mitochondries ; $\times 16\ 000$

Fig. b. — Dans l'oosphère plus âgée, la répartition du métabolite marqué est sensiblement la même. Les plastes sont souvent plus fortement marqués que les mitochondries ; $\times 15\ 000$.

Fig. c. — On remarque que les « micronoyaux » (∇) ne sont pas marqués : $\times 16\ 000$.



ÉTUDE INFRASTRUCTURALE DE L'OOGÉNÈSE CHEZ UNE PTÉRIDOPHYTE

II. - ÉVOLUTION DES MITOCHONDRIES ET DES PLASTES

Yves TOURTE

*Laboratoire de Biologie Végétale n° 5, Université Pierre et Marie Curie, U.E.R. 59,
9, quai Saint-Bernard, 75230 Paris Cedex 05, France*

JOURNAL DE MICROSCOPIE

ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE

Créé en 1962, le Journal de Microscopie devient en 1975 le JOURNAL DE MICROSCOPIE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE. Publié avec le concours du Centre National de la Recherche Scientifique, ce périodique fera paraître 9 numéros en 1975.

Conseil scientifique international :

B. AFZÉLIUS, Stockholm	F. GUBA, Budapest
T.F. ANDERSON, Philadelphie	E. KELLENBERGER, Genève.
A. BAIRATI, Milan	J.B. LE POOLE, Delft
E.L. BENEDETTI, Paris	E.H. MERCER, Canberra
A. BIRCH-ANDERSEN, Copenhague	E. RUSKA, Berlin
M. BURGOS, Mendoza	K. SMETANA, Prague
A. CLAUDE, Bruxelles	R. UYEDA, Nagoya
V.E. COSSLETT, Cambridge	

Comité de rédaction :

J. ANDRÉ	G. DUPOUY	A. OBERLIN
R. BERNARD	C. FERT	P. PERIO
W. BERNHARD	S. GOLDSZTAUB	F. PERRIER
M. BESSIS	P. GRIVET	J. PHILIBERT
R. BUVAT	A. GUINIER	D. PICARD
N. CARASSO	F. HAGUENAU	A. SAULNIER
R. CASTAING	P. LÉPINE	J.-P. THIÉRY
R. COUTEAUX	C. MAGNAN	

Le secrétariat de rédaction est assuré par A. OBERLIN et J. PHILIBERT, la rédaction en chef par P. FAVARD.

ABONNEMENTS

Volume 22, 23, 24, 1975

(9 numéros)

Laboratoires et firmes	420,— F
Particuliers (à titre strictement privé)	280,— F
Membres de la S.F.M.E. (à titre strictement privé)	250,— F

Anciennes années disponibles. Se renseigner au siège.

La souscription doit être envoyée à :

Société Française de Microscopie Électronique
(École Normale Supérieure - Laboratoire de Botanique)
24, rue Lhomond, 75231 Paris Cedex 05

Le paiement peut être fait par chèque bancaire ou par virement postal (C.C.P. Paris 10-797-33), établi au nom de la Société Française de Microscopie Électronique.

Ces prix sont nets de toute remise.

ÉTUDE INFRASTRUCTURALE DE L'OOGÉNÈSE CHEZ UNE PTÉRIDOPHYTE

II. - ÉVOLUTION DES MITOCHONDRIES ET DES PLASTES

Yves TOURTE

Laboratoire de Biologie Végétale n° 5, Université Pierre et Marie Curie, U.E.R. 59,
9, quai Saint-Bernard, 75230 Paris Cedex 05, France

INTRODUCTION

Nous avons vu dans un précédent travail (39), que la maturation de l'oosphère du *Pteridium aquilinum* (L.) Khun. était caractérisée par une répartition inégale du matériel nucléaire entre le noyau central et de nombreux micronoyaux qui se forment par bourgeonnement à la périphérie de celui-ci. Nous avons constaté que ce bourgeonnement de l'enveloppe nucléaire était contemporain d'une redistribution des composants ultrastructuraux du nucléole. Des formations finement granuleuses ou « micronucléoles » pénètrent dans les bourgeons qui se détachent alors du noyau principal et migrent jusque dans les couches périphériques du cytoplasme où elles paraissent se désintégrer et libérer leur contenu.

Parallèlement à ces événements nucléaires, un certain nombre de remaniements affectent les organites du cytoplasme dans leur structure, leur répartition et leur activité. C'est à cette évolution infrastructurale du cytoplasme qu'est consacrée la présente étude.

Comme nous l'avons précisé précédemment, nous distinguons deux périodes successives :

- la période de maturation « sensu stricto » ;
- la période d'attente et de fécondation.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Le matériel et les techniques utilisés sont les mêmes que ceux indiqués précédemment (39).

OBSERVATIONS

a. Evolution des organites cytoplasmiques au cours de la période de maturation

1. Généralités

Au début de la maturation de l'oosphère, la structure cytoplasmique est très peu différente de celle de la cellule centrale dont elle dérive. Il n'y a pas de distribution préférentielle des organites et des structures membranaires autre que

celle, homogène, d'une jeune cellule à rapport nucléoplasmique élevé. Les faits essentiels de l'évolution du cytoplasme durant cette période correspondent à une augmentation du nombre des éléments figurés, en particulier des plastes et des mitochondries — ou du moins de leurs sections sur les coupes — ainsi qu'à l'acquisition d'une polarité consécutive à la répartition hétérogène de ces organites. Cette polarité de l'oosphère, se maintenant jusqu'à la fécondation, sera celle de l'œuf fécondé et par conséquent va influencer le développement ultérieur de l'embryon qui va y prendre naissance.

2. Les plastes

Le nombre des sections de plastes par unité de volume cytoplasmique augmente à peu près dans les mêmes proportions que celui des mitochondries. Cependant, le rapport du nombre des plastes à celui des mitochondries ne varie pas de façon significative et avoisine toujours un tiers. La structure interne des plastes est aussi régressée et simplifiée qu'elle l'était dans la Cellule Centrale dont l'oosphère dérive (38) (Pl. I, fig. *a* et *b*). La densité du stroma est relativement élevée et rend difficile la mise en évidence des plastoribosomes. Les thylakoïdes sont peu nombreux et représentés le plus souvent par deux ou trois doubles membranes qui partent de la paroi interne et pénètrent dans le stroma sans direction privilégiée. Il ne se forme que très rarement des cloisons continues. Les disques granaires sont également peu nombreux et, même assez souvent, absents, bien que les cultures des prothalles femelles s'effectuent sous une forte intensité lumineuse.

On assiste généralement vers la fin de la période de maturation à une légère amylogénèse. Les lentilles d'amidon, pratiquement absentes dans l'Initiale de la Rangée axiale (38) et bien peu développées dans la Cellule Centrale, se rencontrent maintenant, plus fréquemment, dans l'oosphère mûre. Cet amidon se forme toujours dans une région excentrique du stroma plastidial au contact immédiat des lamelles appartenant au système membranaire interne et grossissent au cours de la maturation.

On rencontre des plastes mélangés aux mitochondries le plus souvent au voisinage du noyau. Ils ne contractent de relations directes ni avec le réticulum endoplasmique, ni avec le noyau, comme cela a été décrit dans des matériels voisins (11, 42).

Dans quelques rares cas, le plaste se déforme et l'on remarque, sur certaines sections, un fragment de cytoplasme apparemment inclus à l'intérieur du volume plastidial (Pl. I, fig. *c*), rappelant un phénomène que l'on retrouve, mais alors de façon beaucoup plus fréquente, chez les mitochondries.

Une étude spectrophotométrique (38) des pigments chlorophylliens n'a pas permis de déceler de différence appréciable entre les cellules sporophytiques et gamétophytiques.

3. Les mitochondries

Les mitochondries se multiplient par bipartition et aussi par bourgeonnement comme le suggère l'examen de coupes sériées (38). Leur structure a peu varié depuis la formation de l'archégone et cet organite subit une dédifférenciation

moins poussée que celle des plastes. Il arrive cependant que, chez de jeunes oosphères, le nombre des crêtes soit assez réduit. On distingue quelques mitochondries dans la matrice en dehors de la zone centrale plus claire.

Au cours de la maturation de l'oosphère, les mitochondries vont subir une double évolution : d'abord une évolution « individuelle », puis, pour certaines d'entre elles, une évolution de « groupe ».

— L'évolution individuelle correspond à un enrichissement de la matrice en substances denses qui vont l'opacifier au point, qu'en fin de période, la matrice s'oppose, par sa densité, à l'espace interne des crêtes mitochondriales, généralement dilatées et absolument transparente aux électrons (Pl. I, fig. *b*). Cette intensification de la densité matricielle atteint aussi bien et en même temps les mitochondries « globuleuses » que les « disques mitochondriaux ». Ceux-ci sont apparus pour la première fois dans la Cellule Initiale de la Rangée Axiale et leur nombre augmente considérablement au cours de la maturation de l'oosphère. Ils dérivent des mitochondries globuleuses par aplatissement progressif de celles-ci. Ils sont désormais tous biconcaves (Pl. II, fig. *a* et *b*), à l'image d'un érythrocyte, formés à la périphérie d'un bourrelet saillant, où se maintiennent la plupart des crêtes et l'essentiel de la matrice (Pl. II, fig. *c*), et d'une partie centrale pouvant être réduite aux deux doubles parois accolées étroitement l'une à l'autre (Pl. II, fig. *e*). Dans les extrémités dilatées, les crêtes ménagent des zones



FIGURE 1. — Reconstitution tridimensionnelle d'un « complexe mitochondrial ».

claires (Pl. II, fig. *e* et *b*) au centre desquelles on peut parfois observer des amas finement striés. Après incorporation de la thymidine tritiée, seules ces zones claires sont radioactives (Pl. II, fig. *d*). Dès leur formation, ces disques se gauchissent pour former des « coupes creuses » plus ou moins évasées (Pl. II, fig. *a* et *b*). Le cytoplasme qui se trouve à l'intérieur de la coupe et qui ne conserve de relation avec le cytoplasme général que par un étroit goulet, subit des transformations, en particulier un net éclaircissement en fin de période (Pl. II, fig. *b*), correspondant peut être à une forme d'altération. Ces mitochondries demeurent isolées (Pl. II, fig. *b*) ou s'associent en s'empilant plus ou moins régulièrement les unes au dessus des autres pour former ce que nous appelons un « complexe mitochondrial » (Pl. II, fig. *e*). Ces deux structures, disques isolés et complexes mitochondriaux, coexistent et voisinent dans la même cellule (Pl. III, fig. *c*). Le complexe mitochondrial est généralement composé de deux (Pl. III, fig. *a*) ou trois disques (Pl. III, fig. *b*) seulement, mais on peut en observer certains qui résultent de l'association de cinq disques au moins, rappelant grossièrement l'empilement des disques membranaires dans un dictyosome. L'ensemble peut se déformer pour donner, selon le plan de coupe, une grande inclusion subsphérique de disques mitochondriaux emboîtés (Figure I).

Au cours de la maturation, les mitochondries, comme les plastes, se regroupent dans la zone circumnucléaire abandonnant presque totalement le cytoplasme périphérique et en particulier celui qui se trouve dans la partie la plus proche de la Cellule Ventrale.

b. Evolution des plastes et des mitochondries au cours de la seconde période et de la fécondation

Au cours de ces périodes, le cytoplasme ne présente que d'assez faibles variations dans les infrastructures de chaque catégorie d'organites.

Les *plast*es ne subissent aucune modification notable de leur aspect. Ils ne semblent plus se diviser. Dans la majorité des cas ils ne subissent ni lyse ni dégénérescence. Tout au plus peut-on remarquer que les inclusions d'amidon continuent à se développer dans leur stroma.

Les *mitochondries* poursuivent l'évolution amorcée au cours de la première période, c'est-à-dire qu'elles participent, de plus en plus nombreuses à la formation de « complexes mitochondriaux » (Pl. III, fig. *c*). En effet, malgré la présence non négligeable de sections circulaires simples, il n'est pas possible d'affirmer l'existence de mitochondries globuleuses isolées, cela étant dû à la technique des coupes. Le cytoplasme qui se trouve inséré à l'intérieur de ces formations mitochondriales a tendance à s'éclaircir très nettement et manifeste parfois une lyse nette et complète.

Il est intéressant de suivre, lors de la fécondation, le destin des organites cytoplasmiques du spermatozoïde dans le cytoplasme de l'oosphère et en particulier celui des nombreuses mitochondries qui sont étroitement liées à l'appareil cinétique.

En ce qui concerne les plastes, le problème apparaît très délicat car, si certains spermatozoïdes possèdent encore clairement des plastes amylières lorsqu'ils franchissent le canal archégonial (38), la présence de tels organites est

toutefois difficile à établir pour la plupart d'entre eux, et nous devons reconnaître que nous n'en avons jamais décelés dans les éléments d'origine spermatique rencontrés dans l'oosphère fécondée.

Les mitochondries sont, par contre, indubitablement présentes dans les spermatozoïdes au moment de leur entrée dans l'oosphère. Toutefois, les repérer dans le cytoplasme femelle n'est pas toujours aisé du fait de leur forte ressemblance structurale avec les mitochondries d'origine femelle. On peut cependant constater qu'elles présentent très souvent de légers caractères distinctifs dont l'ensemble laisse présumer de leur origine sans permettre pour autant la prise d'une position décisive. Parmi ces caractères, le contraste général, le nombre élevé, la longueur et l'enchevêtrement des crêtes, la densité plus élevée de l'espace interne des crêtes par rapport à celle de la matrice, témoignent autant de leur appartenance au gamète mâle que leur position à proximité des restes de l'appareil cinétique et en particulier des corpuscules basaux ou des fibres de la couche fibreuse (Pl. IV, fig. c). On sait également (40) que cette dernière est toujours associée, et en particulier dans sa partie antérieure, à une longue mitochondrie. Les mitochondries d'origine femelle ont des crêtes plus courtes et plus ordonnées ainsi qu'une matrice plus abondante (Pl. IV, fig. a). C'est pour cet ensemble de raisons que nous pouvons, sur certains documents, reconstituer l'origine des éléments mitochondriaux du zygote. Cependant, ces différences, d'autant plus sensibles que la pénétration du spermatozoïde dans le cytoplasme de l'oosphère est plus récente, semblent s'atténuer à mesure que la fécondation progresse. Il est difficile, en effet, de maintenir cette affirmation lorsque l'on considère des documents recueillis 36 et 48 heures après l'insémination. Cette incertitude est due, soit à une « homogénéisation » du chondriome dont tous les éléments se trouvent désormais soumis aux mêmes facteurs environnants, soit à une exclusion de la fraction mitochondriale d'origine mâle. Il n'est pas encore possible de faire un choix car il n'existe pas, comme, par exemple, chez les Gymnospermes (14, 16), de différence aussi nette entre le chondriome et le plastidome appartenant à chacun des gamètes. Il est d'ailleurs probable que le seul examen cytologique ne puisse pas apporter une réponse définitive au problème de la participation des éléments cytoplasmiques mâles à la construction de l'embryon.

c. Evolution quantitative des plastes et des mitochondries au cours de l'oogenèse

En partant de micrographies, nous avons estimé le nombre moyen de sections de plastes et de mitochondries pour une surface de $100 \mu\text{m}^2$, à divers stades de l'oogenèse y compris les cellules desquelles dérive l'oosphère. Les résultats sont donnés Figure 2.

Si nous constatons qu'il y a une période de multiplication active des plastes et des mitochondries en début de maturation, il convient de remarquer que la densité en organites n'augmente que très légèrement et se stabilise par la suite. Le rapport plastes/mitochondries est toujours constant. La multiplication de ces organites correspond donc davantage à la croissance volumétrique de l'oosphère qu'à un enrichissement de celui-ci.

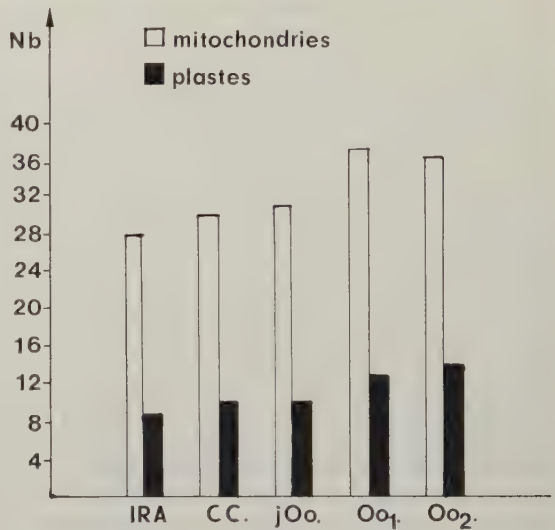
FIGURE 2. — Densité des mitochondries et des plastes au cours de l'oogenèse.

Nb, nombre de profils pour $100 \mu\text{m}^2$; IRA, initiale de la rangée axiale; CC, cellule centrale; jOo, jeune oosphère dès sa mise en place; Oos, oosphère en cours de maturation; Oos, oosphère prête à être fécondée.

Nous constatons :

1. Que les profils des plastes sont environ trois fois moins nombreux que les profils des mitochondries.

2. Que la densité des sections d'organites augmente légèrement au cours de la période de la maturation de l'oosphère précisément celle qui correspond à la plus forte incorporation de la thymidine tritiée dans ces organites (voir p. 8). Il faut toutefois tenir compte qu'il y a en plus une multiplication des plastes et des mitochondries en relation avec l'augmentation du volume général de l'oosphère.



Il faut toutefois tenir compte qu'il y a en plus une multiplication des plastes et des mitochondries en relation avec l'augmentation du volume général de l'oosphère.

Nous devons cependant remarquer que cette augmentation du nombre des sections ne signifie pas obligatoirement une augmentation du nombre réel d'organites. Ainsi un simple allongement d'environ un cinquième de ceux-ci entraîne le même résultat. On aurait dans ce cas une augmentation du volume total des organites par rapport à celui du cytoplasme, ce qui, à certains égards, n'est pas fondamentalement différent. La seule valeur vraiment significative est en réalité le nombre de molécules d'ADN mitochondriales et plastidiales contenues par la cellule, mais cette donnée ne peut pas être obtenue par les observations cytologiques.

d. Incorporation cytoplasmique de la thymidine au cours de l'oogenèse

Nous avons vu (39) que la thymidine tritiée ajoutée au milieu de culture est incorporée de façon inégale dans les différentes cellules de la rangée axiale. Au niveau du cytoplasme, les techniques autoradiographiques à haute résolution montrent que l'incorporation du métabolite marqué est essentiellement due aux plastes (Pl. I, fig. d) et aux mitochondries et, chez ces dernières, uniquement au niveau du bourrelet périphérique (Pl. II, fig. d).

Cependant, cette incorporation varie au cours de la maturation de l'oosphère. C'est ainsi qu'en début de maturation, un profil de mitochondries sur trois manifeste une activité de synthèse alors que cette proportion descend à un sur cinq vers la fin de cette même période et au moment de la fécondation. Ces

valeurs sont respectivement de *un sur cinq* et *un sur huit* pour les profils de mitochondries appartenant aux « complexes mitochondriaux ». En ce qui concerne les plastes on retrouve des proportions tout à fait comparables (Tableau I)

TABLEAU I. — Incorporation de thymidine $^3\text{H}^*$ pendant 4 heures ajoutée au milieu de culture suivie de 2 heures de postmétabolisation (20 μCi ml). Rapport entre le nombre de profils de mitochondries et de plastes ayant incorporé le métabolite et le nombre total de ces organites décomptés. Quelques décomptes partiels ont été également faits (forme des mitochondries, nombre de grains d'Ag.....) :

- colonne n° 1 en première période de maturation;
— colonne n° 2 dans l'oosphère prête à être fécondée.

Ligne n°	Mitochondries	1	2
1	Nombre total de profils de mitochondries observés	458	227
2	» » » » marqués	157	41
3	Nombre mitochondries marquées par 1 grain d'Ag	138	37
4	» » » » 2 » »	16	4
5	» » » » 3 et plus	3	0
6	Nombre total de mitochondries en « cupule »	58	24
7	» » » marquées	12	3
8	Valeur du rapport (2/1) nb. mitochondries marquées	0,331	0,179
	nb. mitochondries total		
9	Valeur du rapport (6/1) nb. mitochondries en « cupule »	0,127	0,105
	nb. mitochondries total		
10	Valeur du rapport (7/6) nb. mito. en « cupule » marquées	0,20	0,12
	nb. mitochondries en « cupule »		
11	Valeur du rapport (4 + 5/2)	0,12	0,09
Plastes			
12	Nombre total de profils de plastes observés	143	69
13	» » » » marqués	54	14
14	Nombre de plastes marqués par 1 grain d'Ag	42	11
15	» » » » 2 » »	10	3
16	» » » » 3 et plus	2	0
17	Valeur du rapport (13/12) nb. plastes marqués	0,376	0,203
	nb. plastes total		
18	Valeur du rapport (15 + 16/13) nb. plastes mar. + grains	0,22	0,21
	nb. plastes total marqués		
19	Valeur du rapport (12/1) nb. plastes total	0,321	0,30
	nb. mitochondries total		
20	Valeur du rapport (8/17)	0,89	0,88

mais ils ne représentent, il est vrai, qu'une population trois fois moins nombreuse que la population mitochondriale.

DISCUSSION

1. Les mitochondries

Les infrastructures des mitochondries subissent relativement peu de modifications au cours des principales étapes de l'oogenèse. Il y a, certes, une légère dédifférenciation au cours des premiers stades préoogénétiques marquée par un raccourcissement des crêtes et un éclaircissement de leur matrice puis, lors de la maturation de l'oosphère, une nouvelle différenciation caractérisée par un développement des crêtes et une forte densification de la matrice. C'est à cette même période qu'interviennent les phénomènes les plus caractéristiques qui correspondent à la transformation de certaines d'entre elles en disques, en cupules gauchies, et capables, dans certains cas, de se regrouper en piles plus ou moins importantes que sont les complexes mitochondriaux.

Cet aspect particulier des mitochondries de l'oosphère mûre du *Pteridium aquilinum* a été signalé pour la première fois par Bell et Mühlethaler (10) en 1964 mais ces auteurs pensaient qu'il s'agissait d'une nouvelle génération de mitochondries bien particulières puisqu'elles auraient pris naissance précisément par transformation brutale de bourgeons nucléaires en mitochondries. Celles-ci venaient ainsi remplacer la génération précédente détruite au cours des derniers stades de maturation de l'oosphère.

Nous remarquerons d'abord que le processus de dégénérescence des mitochondries est toujours *très limité*, voire même totalement absent, dans la plupart des cas normaux d'oosphères fécondables. Par ailleurs, nous avons vu (39) qu'*aucune image*, parmi les nombreuses observations effectuées, ne nous suggère une évolution quelconque des vésicules nucléaires, elles-mêmes presque toujours sphériques, en plastes ou en mitochondries. Nous avons, par contre, pu reconstituer la transformation d'une mitochondrie globuleuse en mitochondrie cupuliforme, puis, par association de plusieurs de ces disques, la formation de complexes mitochondriaux. Nous avons également pu montrer que cette transformation des mitochondries en disques biconcaves débute dès le stade d'initiale de la rangée axiale, c'est-à-dire avant les périodes de « Cellule centrale » ou de jeune oosphère, là où précisément Bell et Mühlethaler (10) plaçait l'intervention de ces transformations.

La formation des disques mitochondriaux n'est d'ailleurs pas un trait particulier à cette oogenèse. Des processus analogues ont déjà été décrits dans des cellules prothalliennes banales du *Pteris cretica* (3), dans des spermatocytes en cours de différenciation chez certaines Hépatiques (33), dans l'oosphère d'une Bryophyte : le *Mnium* (4), l'ovule fécondée d'une Orchidée (25), etc. On rencontre également des formations similaires dans les cellules radiculaires d'*Allium cepa* à l'état naturel (1) ou après traitement par la colchicine (28) et dans l'archéspore et le sac embryonnaire d'une Angiosperme (22), mais aussi dans des cellules animales telles que les cellules intersticielles du testicule de Rat (20), dans la cortico-surrénale de cet animal (24), dans les spermatocytes de Scor-

pion (2) et l'ovule d'un mammifère (31). Trois études infrastructurales, particulièrement détaillées, de ce type de mitochondries ont été menées mais elles ne permettent pas de conclure sur la signification profonde de cette transformation. Dans le règne animal, de telles structures caractérisent, selon Beaulaton (5, 7) le *chondriome* des cellules impliquées dans la *sécrétion des hormones* et en particulier dans les cellules qui participent au *métabolisme des stéroïdes*. Cet auteur a particulièrement bien étudié la formation des « chondrosphères » qui sont tout à fait comparables aux « complexes mitochondriaux » dans les cellules de la glande prothoraciques des Vers à soie. Dans le règne végétal, les « complexes mitochondriaux » ont été interprétés comme des structures caractéristiques des tissus dormants par Bagshaw et coll. (3) tandis que Mesquita (28) y voit une perturbation de la chaîne respiratoire due à une mobilisation très rapide de l'ATP dans certaines conditions expérimentales particulières.

Cette dernière interprétation retient toute notre attention car elle pourrait traduire un état anoxique provisoire dû à l'apparent isolement de l'oosphère au fond de la cavité archégoniale. Une situation tout à fait comparable a été retrouvée récemment par Chesnoy (19) lors de la maturation du gamète femelle du *Biota orientalis*. La confirmation de cette hypothèse pourrait nous être donnée si nous constatons une résorption des complexes mitochondriaux lors de la réactivation de l'oosphère par la fécondation ou au cours du développement embryonnaire.

2. Les plastes

L'évolution des plastes au cours de l'oogenèse ne présente aucune particularité par rapport à celle normale d'un tissu en période méritique. Elle se manifeste par une diminution de leur volume et une simplification du système membranaire interne corrélativement à une augmentation de leur nombre. Les déformations de grande ampleur y sont rares et, comme pour les mitochondries, les processus d'autolyse n'entraînent qu'une élimination très faible et limitée de la population plastidiale.

Il n'y a pas en particulier d'évolution « de groupe » comme celle — très particulière — qui affecte les plastes de certaines Gymnospermes au cours de la maturation de l'oosphère (2, 14, 16). On ne peut toutefois pas manquer de rapprocher ici l'évolution des mitochondries qui s'étirent et s'emboîtent en formant les « complexes mitochondriaux » que nous avons décrite avec l'évolution plastidiale de l'oosphère gymnospermienne et de celle décrite au cours de l'oogenèse chez les Sélaginellacées (30). Une telle identité évolutive affectant deux catégories d'organites bien distinctes et ayant des fonctions bien différentes, surprend et appelle de nouvelles observations.

Nous n'avons pas constaté d'association particulière des plastes avec le réticulum endoplasmique comme cela a été décrit chez les Gymnospermes par Camefort (15), ni avec le noyau ainsi que Bonnot l'a montré chez les Bryophytes (11).

Un point important de l'évolution plastidiale concerne l'amidon. Les plastes contiennent toujours des inclusions amylofères dans toutes les cellules prothalliennes. Il n'y a qu'au cours de la formation des gamètes qu'elles ont tendance à disparaître en particulier lors des premiers cloisonnements qui marquent

l'édification du jeune archégone. Elles réapparaissent ensuite au cours de la maturation de l'oosphère elle-même. Déjà observé en microscopie photonique par Vazart (43), ce phénomène a été retrouvé en microscopie électronique lors de la gamétogenèse chez des Hépatiques (21), des Fougères Polypodiacées (8, 9), et des Marsileacées (41). Cette réapparition de l'amidon a été décelée à un stade plus précoce de la formation de l'archégone, dans la Cellule Centrale, chez les Fougères hétérospées (41), et chez certaines Gymnospermes (18).

3. Le problème de la participation des organites cytoplasmiques du spermatozoïde à la constitution du zygote

L'hérédité cytoplasmique est purement maternelle chez la grande majorité des animaux puisque, le plus souvent, seul le noyau spermatique pénètre réellement dans l'ovule vierge. On a toutefois signalé chez certaines espèces la présence de mitochondries d'origine mâle au sein du cytoplasme de l'œuf avant sa première segmentation (29). Chez les végétaux, du moins chez ceux qui ont fait l'objet d'une étude cytologique détaillée — et ils sont encore peu nombreux — une partie importante du cytoplasme spermatique s'introduit dans le cytoplasme de l'oosphère au moment de la fécondation. C'est pour le moins la constatation à laquelle on est arrivé chez les Gymnospermes (13, 16, 17). Par contre, chez les Angiospermes, les deux noyaux spermatiques n'entraînent qu'assez peu de matériel cytoplasmique lors de la double fécondation (26).

Le problème de l'héritage cytoplasmique au niveau infrastructural est mieux connu chez les Gymnospermes, chez lesquels on constate des résultats variant selon les groupes et les espèces. C'est ainsi que selon Camefort (13) le chondriome de l'embryon du *Larix decidua* résulte de l'association de la majorité des mitochondries femelles et de quelques mitochondries d'origine mâle ; tous les plastes sont de provenance exclusivement pollinique. Chez le *Biota orientalis*, Chesnoy (17) a montré que si les plastes ont même origine que chez le *Larix*, les mitochondries de l'embryon, par contre, proviennent, en grande majorité, du gamète mâle et bien peu sont issues de l'oosphère. Quant au *Pteridium*, nous avons constaté que si les spermatozoïdes ne possèdent plus de plastes, ou seulement des formes dégradées difficiles à identifier dès leur arrivée dans le ventre archégonial, ils possèdent, par contre, des mitochondries apparemment fonctionnelles. Nous pouvons, d'ailleurs, suivre, durant quelques temps, leur destinée dans le cytoplasme femelle. La présence de ces mitochondries mâles, même si elles ne constituent qu'une faible proportion de la population mitochondriale du zygote, offre un certain intérêt du point de vue génétique. Ces mitochondries apportent en effet, dans leur structure même, des molécules d'ADN et par conséquent des caractères qui peuvent s'exprimer lors de l'édification de l'embryon. Malheureusement, chez le *Pteridium*, comme le constate également Camefort (13), chez le *Larix decidua*, l'évolution ultérieure des mitochondries d'origine mâle et femelle ne peut être suivie par les méthodes cytologiques. Elle aboutit rapidement à la constitution d'un chondriome morphologiquement homogène que des techniques génétiques ou biochimiques permettraient seules alors de distinguer. Dans ce domaine, quelques travaux furent bien tentés (27), mais ils n'ont pas encore apporté de véritables réponses au

problème posé, en particulier chez les Ptéridophytes, du fait de certaines difficultés d'ordre technique (durée des cycles, stérilité de certains porteurs de caractères marqués).

CONCLUSION

La maturation de la cellule sexuelle femelle correspond à trois phénomènes essentiels plus ou moins concomitants. Ceux-ci sont apparemment indépendants les uns des autres.

A cet égard nous avons en effet constaté :

1. Qu'il y a formation de *micronoyaux* complets à la périphérie du noyau central et que ceux-ci *paraissent ne jamais se transformer ni en plastes ni en mitochondries*. Nous avons montré, par ailleurs, que ce phénomène de bourgeonnement cellulaire se rattachait en réalité à une matérialisation à l'échelle infrastructurale des relations nucléoplasmiques particulières (39).

2. Qu'il existe bien un système autolytique du cytoplasme de l'*oosphère* (35, 37). Celui-ci participe au rejeunissement de cette cellule au cours de la maturation en exaltant son activité dans les oosphères non fécondées. Ce système joue en fait un rôle important dans la dégénérescence de la grande majorité des oosphères portées par les prothalles, mais nous avons montré que la formation des visicules qui lui appartiennent se fait à partir de *profils du réticulum endoplasmique et non à partir d'une lyse des mitochondries et des plastes de la génération gamétophytiques* (35, 37).

3. Enfin, que les plastes et les mitochondries de l'*oosphère* dérivent des plastes et des mitochondries des cellules qui l'ont précédée dans la lignée gamétogène. Ce sont donc *les organites qui appartiennent à la génération gamétophytique qui seront plus tard ceux du sporophyte*. Aucun élément n'est apparu favorable à l'idée d'une discontinuité dans les lignées plastidiales et mitochondriales lors de la reproduction sexuée des Fougères. Les évolutions respectives de ces deux lignées sont d'ailleurs nettement différentes l'une de l'autre. Alors que le plaste subit un rajeunissement important et retourne à l'état de proplaste durant les premiers stades de maturation de la rangée axiale, les mitochondries paraissent peu se différencier, ou se transformer, si ce n'est en opacifiant leur matrice et en particulier, pour certaines d'entre elles du moins, à la formation de « *complexes mitochondriaux* ». Par ailleurs, nous n'avons jamais observé d'organites à structure ambiguë qui puissent suggérer le passage d'une lignée à l'autre comme il ressort de certains travaux récents (23, 32, 42).

RÉSUMÉ

Au cours de la maturation de la cellule femelle d'une Ptéridophyte le *Pteridium aquilinum*, il y a redistribution, à l'intérieur du cytoplasme, des plastes, des mitochondries et des micronoyaux qui se rassemblent dans la zone circumnucléaire.

Les plastes et les mitochondries se multiplient activement au début de l'oogenèse au cours d'une phase de croissance volumétrique de la cellule, mais leur rapport numérique ne

varie pas, mettant ainsi en évidence l'existence d'un mécanisme régulateur. Pour ces deux catégories d'organites, la maturation de l'oosphère est caractérisée par une régression importante de la structure lamellaire intérieure des plastes et par une évolution particulière des mitochondries qui se transforment en disques biconcaves; l'essentiel des crêtes et les ADN se rassemblant dans un bourrelet périphérique. Ces disques mitochondriaux peuvent s'associer en piles ou en cupules concentriques pour former des « complexes mitochondriaux » qui ne sont pas sans rappeler les « chondrosphères » décrites, ici même, dans certains tissus animaux.

Il a été également démontré, qu'au cours de la fécondation, des mitochondries appartenant au spermatozoïde pénètrent dans le cytoplasme de l'oosphère et qu'il y a ainsi mélange des chondriomes mâle et femelle dans la première cellule du sporophyte.

SUMMARY

During oogenesis in a plant, plastids, mitochondria and micronuclei rassemble around the nucleus.

Multiplication of chloroplasts and mitochondria is more important at the beginning of oogenesis during cell growth but their relative number do not vary displaying so the existence of a regulative mechanism. About these two kind of organelles, egg maturation is characterized by a regression of the internal system of plastid and by a particular evolution of mitochondria which became biconcave discs; most of the cristae and DNA assemble in the peripheral pad. The mitochondrial discs may associate in piles making « mitochondrial complexes » which look like of the « chondrospheres » described in some animal cell.

It as been also demonstrated that during fertilization, mitochondria of spermatozoïd penetrate into the egg cytoplasm and so male and female mitochondria are mixed in the first sporophytic cell.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALBERGONI E., 1964, Proceci de neofornatione di mitochondri nella cellula vegetale. *G. Bot. Ital.*, **71**, 243-251.
2. ANDRÉ J., 1962. Contribution à la connaissance du chondriome. *J. Ultrastruc. Res.*, suppl. n° 3, 1-185.
3. BAGSHAW V., BROWN R. et YEOMAN M., 1969. Changes in the mitochondrial complex accompanying callus growth. *Amer. J. Bot.*, **33**, 35-44.
4. BARBIER C., 1972. Premières données ultrastructurales sur la différenciation de l'oosphère d'une Bryophyte le *Mnium undulatum*. *C.R. Acad. Sc.*, **274**, 3222-3225.
5. BEAULATON J., 1964. Évolution du chondriome dans la glande prothoracique du Ver à soie au cours du cycle sécrétoire pendant les 4^e et 5^e stades larvaires. *J. Microscopie*, **3**, 167-186.
6. BEAULATON J., 1967. Localisation d'activités lytiques dans la glande prothoracique du Ver à soie du Chêne au stade prénymphal; I. Structures lysosomiques, appareil de Golgi. *J. Microscopie*, **6**, 179-200; II. Les vacuoles autolytiques (cytolysomes). *J. Microscopie*, **6**, 349-370.
7. BEAULATON J., 1968. Modifications ultrastructurales des cellules sécrétrices de la glande prothoracique du Ver à soie au cours des deux derniers âges larvaires. I. le chondriome et ses relations avec le réticulum agranulaire. *J. Cell. Biol.*, **39**, 501-525.
8. BELL P.R., 1964. The membranes of the Fern egg. In: *22th Symposium of Society of Develop. and growth, Academie Press, New York*, 212-231.
9. BELL P.R., 1969 paru en 1970. Are plastids autonomus? *Symp. Soc. Exper. Biol. U.S.A.*, **24**, 109-127.

10. BELL P.R. and MUHLETHALER K., 1964. The degeneration and reappearance of mitochondria in the egg cells of a plant. *J. Cell Biol.*, **20**, 235-248.
11. BONNOT E.J., 1967. Relations structurales nucleoplastidiales dans les cellules méristématiques du gamétophyte feuillé de *Polytrichum formosum* Hedv. *C. R. Acad. Sc.*, **264**, 2555-2558.
12. CAMEFORT H., 1962. L'organisation du cytoplasme dans l'oosphère et la cellule centrale du *Pinus laricio*. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **12**, 265-291.
13. CAMEFORT H., 1967a. Fécondation et formation d'un néocytoplasme chez le *Larix decidua* Mill. *C. R. Acad. Sc.*, **265**, 1784-1787.
14. CAMEFORT H., 1967b. Observations sur les mitochondries et les plastes de la cellule centrale et de l'oosphère du *Larix decidua*. *C. R. Acad. Sc.*, **265**, 1293-1296.
15. CAMEFORT H., 1970. Particularités structurales du gamète femelle chez le *Cryptomeria japonica*. Formation de complexes plastes-reticulum pendant la période de maturation du gamète. *C. R. Acad. Sc.*, **271**, 49-52.
16. CHESNOY L., 1969. Sur l'origine du cytoplasme des embryons chez le *Biota orientalis* Endl. Cupressacées. *C. R. Acad. Sc.*, **268**, 1921-1924.
17. CHESNOY L., 1969b. Sur la participation du gamète mâle à la constitution du cytoplasme de l'embryon chez le *Biota orientalis*. Endl. *Rev. cyt. Biol. vég.*, **32**, 273-294.
18. CHESNOY L., 1971. Étude cytologique des gamètes, de la fécondation et de la proembryogenèse chez le *Biota orientalis* Endl. Observations au microscope photonique et électronique. I. Le gamète femelle. *Rev. cyt. Biol. vég.*, **34**, 257-304.
19. CHESNOY L., 1971. Évolution de l'activité respiratoire des mitochondries au cours de la maturation du gamète femelle de *Biota orientalis*. *C. R. Acad. Sc.*, **278**, 727-780.
20. CHRISTENSEN A.K. and CHAPMAN G.B., 1959. Cup shaped mitochondria in interstitial cells of the albinos rat testis. *Exper. Cell Res.*, **18**, 576.
21. DIERS L., 1965. Über die Vermehrung von Plastiden und Mitochondrien während der Oogenese von *Sphaerocarpus*. In : *Problem der Biologischen Reduplikation*. Springer Verlag, Berlin, 227-243.
22. GODINEAU J.C., 1966. Ultrastructure du sac embryonnaire de *Crepis tectorum* L. Les cellules du pôle micropylaire. *C. R. Acad. Sc.*, **263**, 852-855.
23. HERICH R. and BOBAK M., 1969. Can mitochondria from plastids be differentiated? *Naturwiss.*, **56**, 422.
24. IDELMAN S., 1967. Données récentes sur l'infrastructure du spermatozoïde. *Ann. Biol.*, **71**, 113-190.
25. ISRAEL H.W. and SAGAWA Y., 1964. Post pollinisation ovule development in *Dendrobium orchids*. II. Fine structure of the nucellar and archesporial phases. *Caryologia*, **17**, 301-316.
26. JENSEN W.A., 1965. The ultrastructure and composition of the egg and central cell of cotton. *Amer. J. Bot.*, **52**, 781-797.
27. MALY D., 1958. Die Genetic strahleninduzierter abweichender Plastidenformen bei Färnen. *Z. Vererb. lehr. Dtsch.*, **9**, 469-470.
28. MESQUITA J.F., 1966. Sur les modifications du réticulum endoplasmique et des mitochondries dans les cellules méristématiques des racines d'*Allium cepa* L. traitées par la colchicine. *C. R. Acad. Sc.*, **263**, 1827-1829.
29. PASTEELS J.H., 1965. Aspects structuraux de la fécondation vus au microscope électronique. *Arch. Biol. Liège*, **76**, 463-509.
30. ROBERT D., 1969. Évolution de quelques organites cytoplasmiques au cours de la maturation de l'oosphère de *Selaginella kraussiana*. *C. R. Acad. Sc.*, **268**, 2775-2778.

31. SINGER P.L. and SAACKE R.G., 1970. Unusual mitochondria of the bovine oocyte. *J. Cell Biol.*, **46**, 405-408.
32. STERLING C., 1972. Sur l'origine mitochondriale probable des chloroplastes chez le *Gladiolus*. *C. R. Acad. Sc.*, **274**, 862-865.
33. SUIRE C., 1970. Recherches cytologiques sur deux Hépatiques *Pellia epiphylla* L. et *Radula complanata*; ergastome, sporogénèse et spermatogénèse. *Le Botaniste*, **53**, 125-392.
34. TOURTE Y., 1970. Évolution des structures nucléolaires au cours de la gamétogénèse femelle du *Pteridium aquilinum* L. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, **117**, 199-208.
35. TOURTE Y., 1970. Nature, origine et évolution d'enclaves cytoplasmiques particulières au cours de l'oogénèse chez le *Pteridium aquilinum* (L.). *Rev. Cytol. et Biol. vég.*, **33**, 311-324.
36. TOURTE Y., 1972a. Les sécrétions mucilagineuses dans l'organe reproducteur femelle d'une Fougère : étude infrastructurale. *J. Microscopie*, **15**, 377-394.
37. TOURTE Y., 1972b. Quelques problèmes cytologiques de la gamétogénèse chez les Fougères. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, **119**, 353-362.
38. TOURTE Y., 1974. Gamétogénèses et fécondation chez une Fougère : étude particulière des infrastructures. *Thèse*, Paris.
39. TOURTE Y., 1975. Étude infrastructurale de l'oogénèse chez une Ptéridophyte. 1. Évolution des structures nucléaires. *J. Microscopie*, **22**, 87-108.
40. TOURTE Y. et HUREL-PY G., 1967. Ontogénie et ultrastructure de l'appareil cinétique des spermatozoïdes du *Pteridium aquilinum*. *C. R. Acad. Sc.*, **265**, 1289-1292.
41. TOURTE Y., ANDRES-KULIGOWSKI J. et SOSSOUNTZOV L., 1971. Quelques aspects de l'oogénèse chez le *Marsilea vestita*. *Ann. Univ. et ARERS*, **9**, 5-11.
42. VAUDOIS B., 1973. Contribution à l'étude de la régénération du prothalle de *Lygodium japonicum* (Filicinées). *Thèse*, Paris.
43. VAZART J., 1956. Étude cytologique de la reproduction sexuée chez quelques Ptéridophytes. *Rev. Cyt. Biol. vég.*, **17**, 263-402.
44. VESK M., MERCER F.V. and POSSINGHAM J.V., 1965. Observations on the origin of chloroplasts and mitochondria in the leaf cells of higher plants. *Austr. J. Bot.*, **13**, 161-169.

Manuscrit reçu le 26 novembre 1974.

Accepté pour publication le 7 juillet 1975.

Abréviations utilisées sur les planches

AcU-Pb, contraste à l'acétate
d'uranyl-citrate de plomb

Glut-Os, fixation au Glutaraldéhyde —
postfixation tétroxyde d'Osmium

Fl, flagelle

M, mitochondrie d'origine femelle

*M**, mitochondrie d'origine mâle

N, noyau

Nu, nucléole

Pl, plaste

re, réticulum endoplasmique

Sp, spermatozoïde

Vn, vésicule nucléaire ou micronoyau

Planche I. — Évolution des plastes et des mitochondries au cours de l'oogenèse chez le *Pteridium aquilinum*.

Fig. a. — *Glut-Os; AcU-Pb*. Vue générale d'une oosphère en cours de maturation. On constate que le noyau est plus faiblement contrasté que le cytoplasme. Celui-ci est riche en éléments figurés : plastes et mitochondries qui se rassemblent en majorité dans le cytoplasme péri-nucléaire tandis que les profils de réticulum endoplasmique ont une localisation essentiellement périphérique; $\times 4\ 500$.

Fig. b. — *Glut-Os; AcU-Pb*. Détail du cytoplasme d'une jeune oosphère. La structure interne des plastes est très régressée. Les mitochondries se présentent sous la forme de profils à peu près circulaires ou de disques dont le centre est déprimé et dont les crêtes sont en majorité rassemblées dans un bourrelet périphérique; $\times 23\ 000$.

Fig. c. — *Glut-Os; AcU-Pb*. Certains plastes subissent des déformations du type de celle présentée sur ce cliché. C'est toutefois un phénomène assez rare dont la fréquence n'augmente que très peu au cours de la maturation de l'oosphère; $\times 27\ 500$.

Fig. d. — *Glut-Os; AcU-Pb*. Autoradiographie à haute résolution après incorporation de thymidines ^3H . Les plastes sont fréquemment marqués par plusieurs grains d'argent; $\times 13\ 000$.

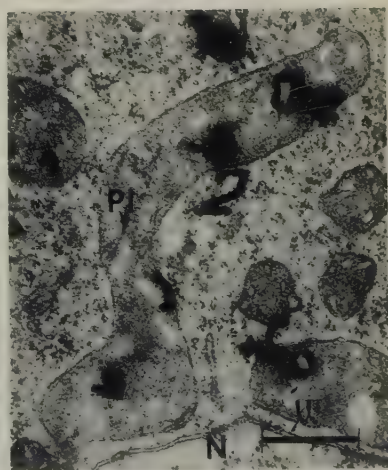
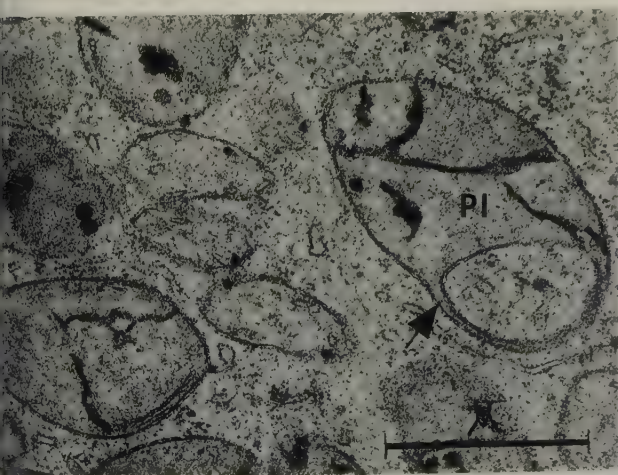
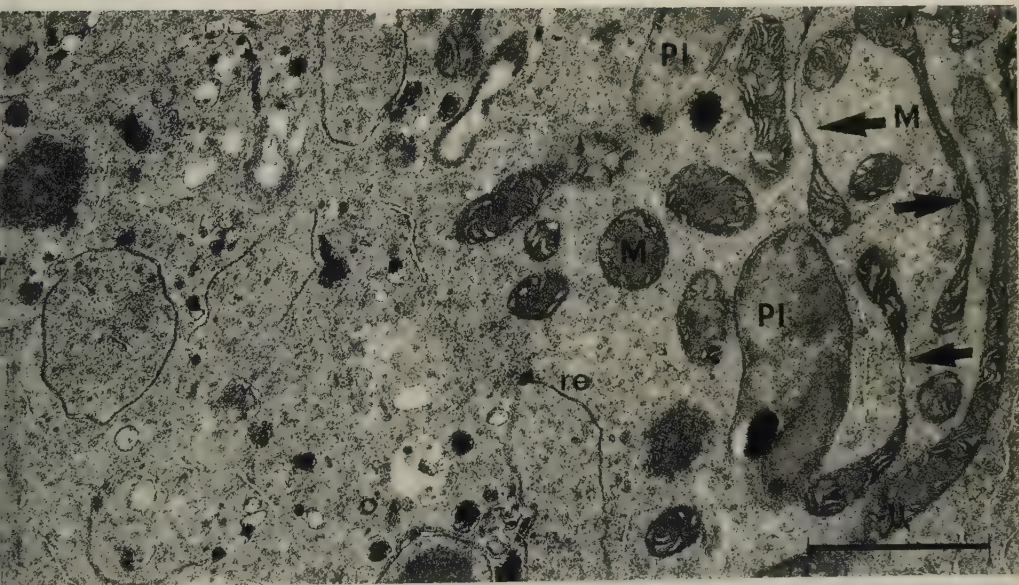
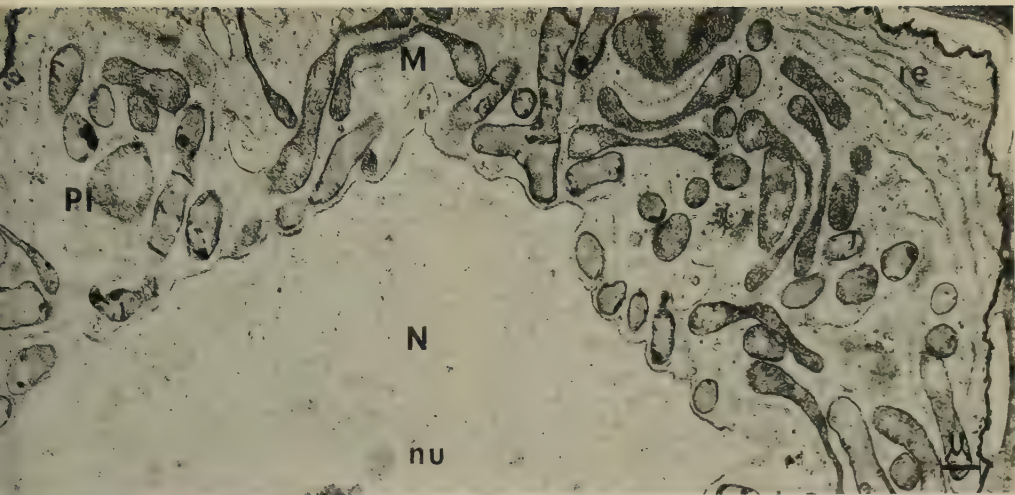


Planche II. — Evolution du chondriome au cours de la maturation de l'oosphère.

Fig. a à e. — Glut-Os; AcU-Pb. Les mitochondries subissent une double évolution, l'une « individuelle » concernant la structure spatiale de chacune d'entre elles, l'autre dite « de groupe » correspondant à la formation de « complexes mitochondriaux ».

Certaines mitochondries s'étalent sous la forme d'un disque plus ou moins régulier dont le bord est formé d'un bourrelet saillant contenant la majeure partie des crêtes ($\rightarrow$) et dont le centre est parfois réduit à une faible couche matricielle laminée entre les deux membranes qui forment l'enveloppe de la mitochondrie (*fig. a et b*). Ce disque se déforme en une cupule plus ou moins profonde. Le cytoplasme qui se trouve inséré à l'intérieur de cette cupule a tendance à s'altérer ($\Rightarrow$ *fig. b*). Une coupe transversale pratiquée au niveau du bourrelet; la mitochondrie prend l'aspect d'un anneau épais avec alternance de crêtes et de plages claires ($\rightarrow$ *fig. c*). Les plages claires correspondent aux zones à ADN comme le montrent les observations autoradiographiques à haute résolution après incorporation de thymidine ^3H (*fig. d*).

Tardivement, ces cupules peuvent s'associer (*fig. e*) pour former des structures complexes qui rappellent ce que certains auteurs ont appelé des « chondrosphères ».

Fig. a, $\times 27\ 000$; *fig. b*, $\times 14\ 000$; *fig. c*, $\times 14\ 000$; *fig. d*, $\times 13\ 000$; *fig. e*, $\times 25\ 000$.

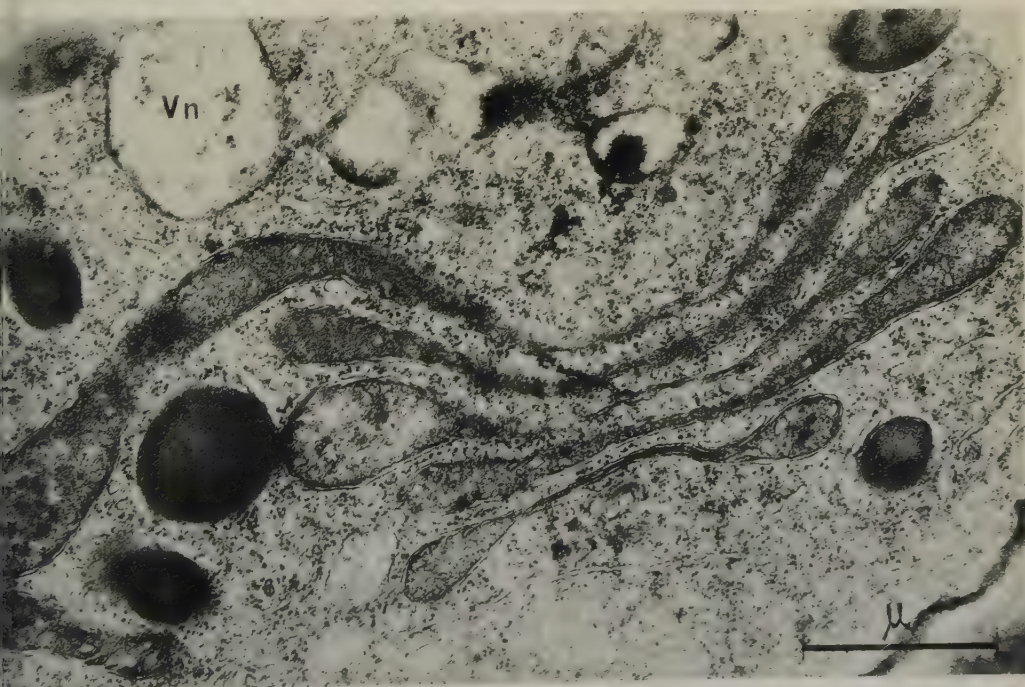
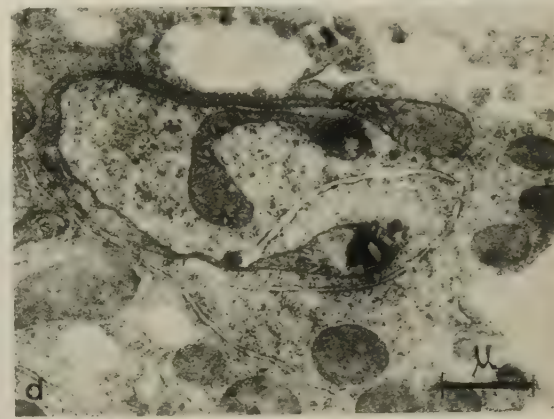
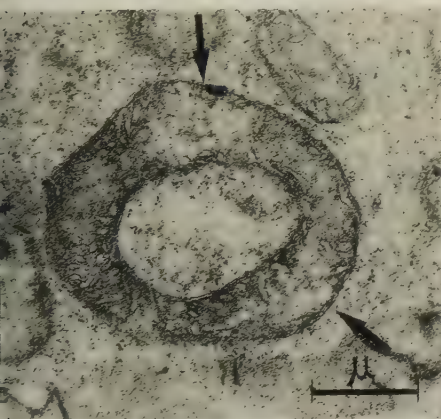
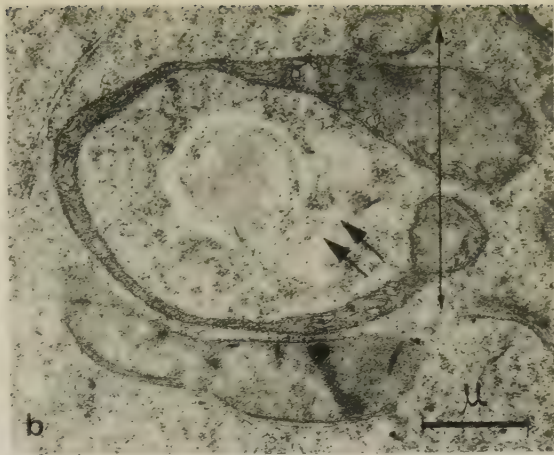


Planche III. — Evolution du chondriome au cours de la maturation.

Fig. a et b. — Glut-Os; AcU-Pb. Selon les plans de coupe, ces complexes mitochondriaux offrent des aspects différents. Leur structure tridimensionnelle a été reconstituée sur la fig. 1; $\times 16\ 000$.

Fig. c. — Glut-Os; AcU-Pb. La coupe perpendiculaire et à peu près médiane, montre des inclusions circulaires concentriques emboîtées. Le nombre de ces formations augmente nettement au cours de la seconde période qui précède immédiatement la fécondation; $\times 37\ 000$.

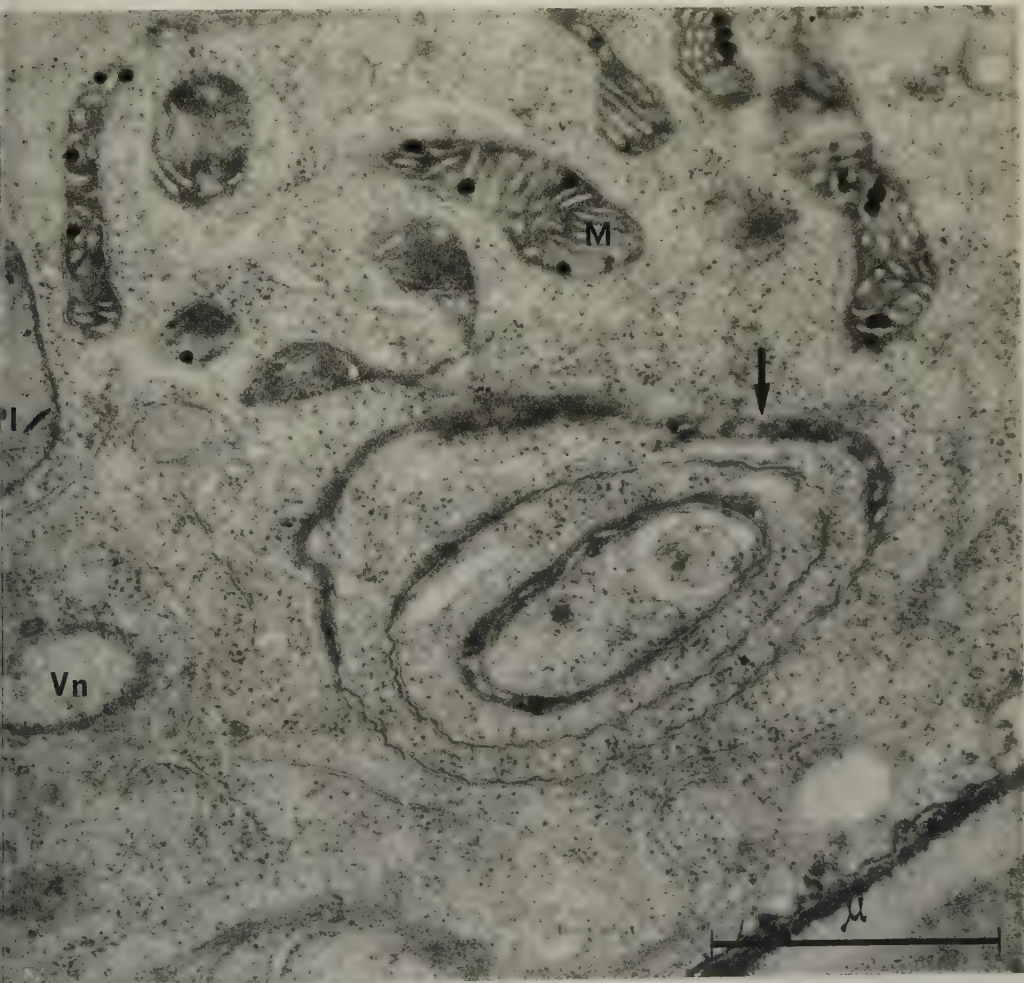
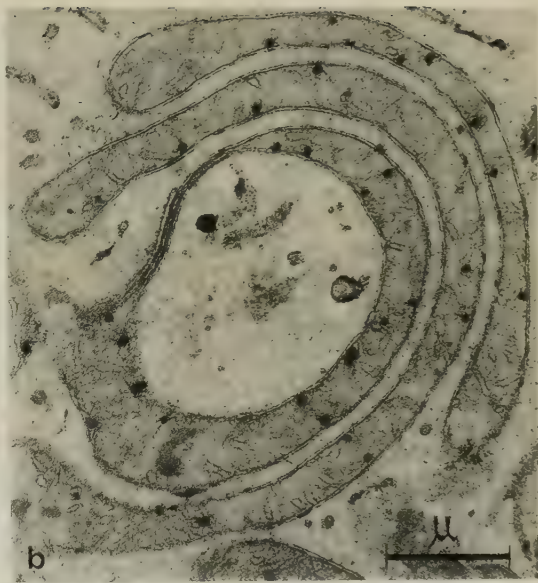
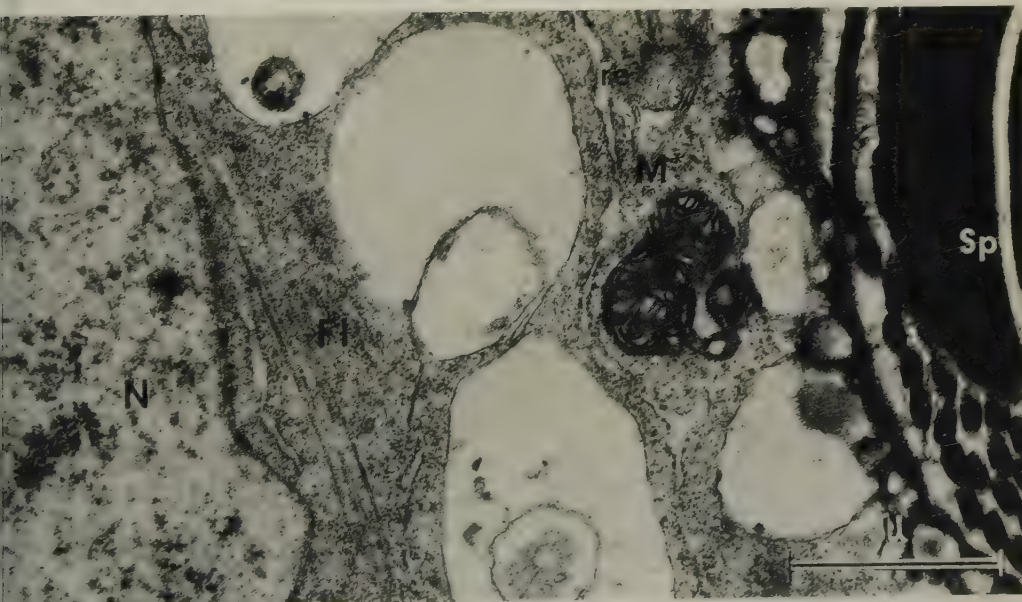
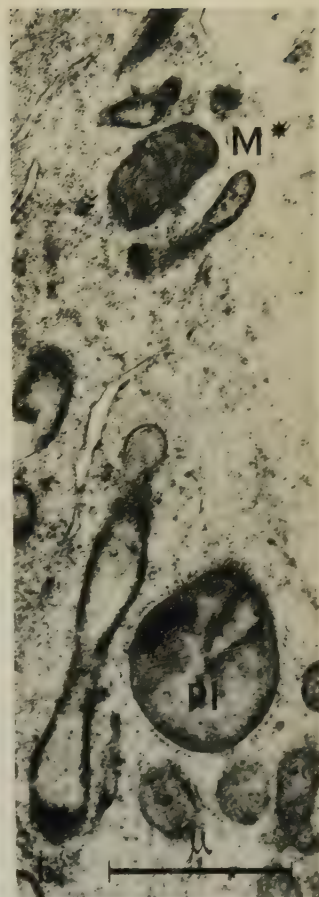
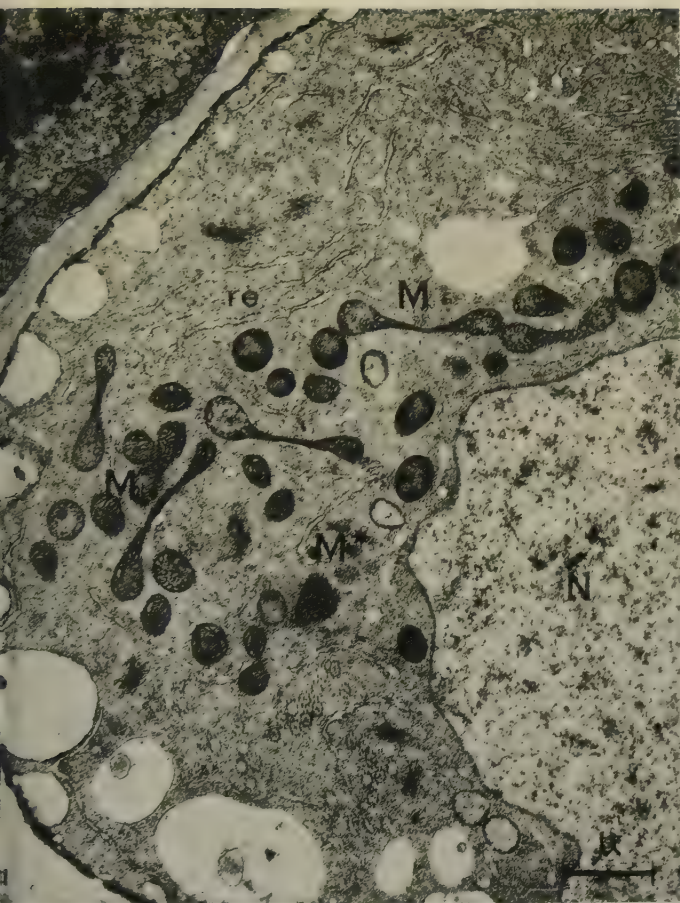


Planche IV. — Le chondriome du zygote.

Fig. a et b. — Glut-Os; AcU-Pb. Mitochondrie d'origine spermatique (M^*) dans une oosphère fécondée depuis 12 h. Elle apparaît assez différente des mitochondries d'origine femelle (M); toutefois cette distinction n'est plus facile à maintenir au-delà de 36 h après la fécondation, période à partir de laquelle le chondriome du zygote devient totalement homogène; *fig. a*, $\times 12\ 000$; *fig. b*, $\times 25\ 000$.

Fig. c. — Glut-Os; AcU-Pb. Détail d'une oosphère fécondée depuis 18 h. Cette mitochondrie d'origine mâle est au voisinage d'une section de flagelle (Fl); $\times 28\ 000$.



**LES SÉCRÉTIONS
MUCILAGINEUSES DANS
L'ORGANE REPRODUCTEUR
FEMELLE D'UNE FOUGÈRE :
ÉTUDE INFRASTRUCTURALE**

Yves TOURTE

*Université Paris VI, Laboratoire de Biologie végétale n° 5, 1, rue Victor-Cousin,
75005 Paris, France.*

JOURNAL DE MICROSCOPIE

Le « Journal de Microscopie », créé en 1962, est publié par les soins de la Société Française de Microscopie Electronique avec le concours du Centre National de la Recherche Scientifique.

Le « Journal de Microscopie » fera paraître en 1972 neuf numéros et publie des articles originaux portant sur la microscopie et ses applications (microscopie classique, électronique, ionique, X, etc. ; applications à la cristallographie, à la biologie, à la métallographie, etc.). Le journal accepte des articles en **anglais** et en **allemand**.

Conseil scientifique international :

B. AFZELIUS, Stockholm	F. GUBA, Budapest
T.F. ANDERSON, Philadelphie	E. KELLENBERGER, Genève
A. BAIRATI, Milan	J.B. LE POOLE, Delft
E.L. BENEDETTI, Paris	E.H. MERCER, Canberra
A. BIRCH-ANDERSEN, Copenhague	E. RUSKA, Berlin
M. BURGOS, Mendoza	K. SMETANA, Prague
A. CLAUDE, Bruxelles	R. UYEDA, Nagoya
V.E. COSSLETT, Cambridge	

Comité de rédaction :

J. ANDRE	G. DUPOUY	A. OBERLIN
R. BERNARD	C. FERT	P. PERIO
W. BERNHARD	S. GOLDSZTAUB	F. PERRIER
M. BESSIS	P. GRIVET	J. PHILIBERT
R. BUVAT	A. GUINIER	D. PICARD
N. CARASSO	F. HAGUENAU	A. POLICARD
R. CASTAING	P. LEPINE	A. SAULNIER
R. COUTEAUX	C. MAGNAN	J.-P. THIERY

Le secrétariat de rédaction est assuré par A. OBERLIN et J. PHILIBERT, la rédaction en chef par P. FAVARD.

ABONNEMENTS

Volume 16 à 18, 1973

Laboratoires et firmes	360,— F
Particuliers (à titre strictement privé)	250,— F
Membres de la S.F.M.E. (à titre strictement privé)	200,— F

Anciennes années disponibles. Se renseigner au siège.

La souscription doit être envoyée à la

Société Française de Microscopie Electronique
Ecole Normale Supérieure — Laboratoire de Botanique
24, rue Lhomond, 75-Paris (5°)

Le paiement peut être fait par chèque bancaire ou par virement postal (C.C.P. Paris 10-797-33), établi au nom de la **Société Française de Microscopie Electronique**.

Tous ces prix sont nets de toute remise.

LES SÉCRÉTIONS MUCILAGINEUSES DANS L'ORGANE REPRODUCTEUR FEMELLE D'UNE FOUGÈRE : ÉTUDE INFRASTRUCTURALE

Yves TOURTE

Université Paris VI, Laboratoire de Biologie végétale n° 5, 1, rue Victor-Cousin,
75005 Paris, France.

INTRODUCTION

L'archégone d'une Fougère Polypodiacee comporte une région inférieure ventrale enfoncée dans le tissu prothallien et un col qui seul fait saillie au-dessus de la surface. La paroi de cet organe est formée d'une couche de petites cellules légèrement chlorophylliennes tandis que sa cavité interne est occupée, au début de la période de maturation du moins, par quatre cellules superposées. Les deux cellules les plus distales peuvent être représentées par une unique cellule binuclée comme chez le *Pteridium* étudié ici.

De ces quatre cellules, la plus profonde devient l'oosphère. Les trois autres sont classiquement considérées comme dégénérant et laissant à leur place une gelée hydrophile mucilagineuse brunâtre. Ce mucilage, que l'on dit riche en substances glucidiques, peut être aussi en acide malique (29), est responsable de l'attraction des anthérozoïdes.

En fait la disparition de la structure cellulaire et son remplacement par un mucilage, qui n'est pas un produit de décomposition, ne peuvent

* Ce travail recouvre en partie une thèse de Doctorat sur la gametogenèse et la fécondation chez une Fougère.

être assimilés à un phénomène de dégénérescence comme celui qui se produit, par exemple, pour l'oosphère lorsqu'elle n'a pas été fécondée. Encore actuellement, très peu de travaux ont été consacrés aux cellules végétales sécrétrices de mucilage (6, 7, 8, 12, 14, 17, 21, 23, 24, 30, 44, 45, 46) et en particulier en ce qui concerne les organes reproducteurs des Cryptogames. Chez ceux-ci, la formation d'un mucilage dans le col de l'archégone d'une Bryophyte (56) est la seule étude récente et les Ptéridophytes n'ont pas été examinées à ce point de vue, d'où notre choix. Nous montrons qu'il s'agit dans ce cas également d'une phase sécrétoire active, caractérisée par une élaboration abondante de substances polyholosidiques non seulement par le plasmalemme mais surtout par l'appareil de Golgi. Le développement important et inhabituel que présente le réticulum endoplasmique, dans ce matériel, pose une nouvelle fois le problème de son éventuelle participation dans certaines sécrétions mucilagineuses végétales (16, 17, 23, 26).

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Nous avons utilisé le *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Polypodiacees). Les techniques d'obtention et de culture aseptique des gamétophytes de cette Fougère ont été précédemment décrites (52), celles concernant le repérage et la dissection des archégonies également (53).

1. Méthodes classiques d'observation

Les prothalles femelles, dont on ne conserve que la région du coussinet, sont découpés en tranches de 0,5 à 1 mm parallèlement à l'axe antéro-postérieur selon la technique de Bell et Muhlethaler (3). Ces fragments sont alors fixés au glutaraldéhyde en solution à 4,5 % dans du tampon cacodylate à pH 7,2 pendant 4 heures à 4°C, puis postfixés par le tétroxyde d'osmium à 2 % dans ce même tampon pendant 2 heures. Nous utilisons également du permanganate de potassium à 2 % dans du tampon acétate-véronal à pH 7,2 pendant 2 heures. Le matériel est déshydraté puis inclus dans le « Durcupan ACM ». Après avoir vérifié, grâce à des coupes semi-fines, que le fragment contient un archégone présentant une orientation et une structure favorables, celui-ci est alors débité en coupes ultra-fines qui sont recueillies sur des grilles de cuivre et contrastées grâce à une solution aqueuse saturée d'acétate d'uranyle, puis par le citrate de plomb selon Reynolds (34).

2. Détection des polysaccharides par la méthode à l'acide periodique-thiocarbohydrazide-protéinate d'argent

Les techniques de fixation et d'inclusion sont les mêmes que précédemment. Les traitements sont réalisés soit directement sur coupes ultrafines recueillies sur des grilles en or sans membrane, soit transportées à la surface des réactifs par de petits anneaux de plastique. La succession des opérations, les temps d'utili-

sation et les concentrations des réactifs sont ceux préconisés par Thiéry (48). Signalons toutefois que nous faisons agir la thiocarbohydrazide pendant des périodes de 2, 6, 8, 18, 24, 48 et 72 heures. Après révélation par le protéinate d'argent les coupes sont lavées par plusieurs bains rapides d'eau distillée.

Deux types de lots témoins ont été obtenus en remplaçant soit l'oxydation à l'acide periodique par une oxydation au peroxyde d'hydrogène, soit l'action de la thiocarbohydrazide par un séjour de même durée dans de l'eau distillée.

3. Extractions enzymatiques

Les extractions par les enzymes, pectinase et amylase, sont pratiquées sur des fragments après fixation par le glutaraldéhyde. Ces fragments soigneusement ringés dans le tampon, sont immergés pendant 24 heures dans des solutions d'enzyme à 0,2 % dans un tampon acétate à pH 4,2 à une température de 30° ou 37 °C. Ils sont ensuite postfixés, inclus, découpés et soumis au test acide periodique-thiocarbohydrazide-protéinate d'argent pour pouvoir être comparés à des lots témoin n'ayant pas subi d'extraction enzymatique.

Dans tous les cas, les observations sont réalisées au moyen d'un microscope électronique Hitachi Hu-IIb.

OBSERVATIONS

1. Aspects cytologiques et cytochimiques de la sécrétion mucilagineuse

A. Mise en place des cellules de l'archégone et début d'élaboration du mucilage
L'édification d'un archégone est représentée Figure 1. Cet organe reproducteur a pour origine une cellule épidermique ventrale qui engendre par division une file de trois cellules dont la cellule médiane est appelée *Initiale de la rangée axiale* (IRA) (Figure 1c). Les cellules de la cavité archégonale, y compris l'oosphère, en dériveront.

Cette initiale de la rangée axiale donne naissance par division à deux cellules superposées inégales en volume (Figure 1d et Pl. I, fig. a). La plus profonde, plus volumineuse, est la *cellule centrale* (CC) ; l'autre est l'*initiale du canal du col* (ICC). Leur structure ne montre que peu de différences. Les profils du réticulum endoplasmique, encore peu nombreux, sont dispersés et les dictyosomes, rares aussi, ne présentent pas de caractère sécrétoire. La réaction des polysaccharides n'est positive qu'au niveau de la lamelle moyenne de la paroi qui sépare les cellules de la rangée axiale de celles appartenant à l'enveloppe ; elle l'est aussi légèrement au niveau du plasmalemme des cellules (Pl. I, fig. c).

Ces deux cellules vont se diviser à leur tour, engendrant alors la rangée axiale définitive constituée de quatre cellules disposées en ligne (Figure 1e). Les deux mitoses ne sont qu'accidentellement synchrones ; la première affecte l'initiale du canal du col, mais elle ne comporte pas de cytodierèse. On obtient donc deux noyaux dans un cytoplasme indivi (Pl. I, fig. b et Pl. III, fig. a). Ces deux noyaux ne tarderont pas à fusionner (53).

La division de la cellule ventrale est complète mais très inégale et met en place la *cellule ventrale du canal* (CV) (Figure 1e) et, dans le fond de la cavité archégoniale l'*oosphère* (Oo).

Les parois de l'archégone dérivent des deux cellules. L'une, la plus superficielle, appelée *cellule-mère de la paroi du col*, va donner, par quelques divisions anticlines, la paroi du col fait saillie à la surface du prothalle. L'autre, la plus profonde appelée *cellule basale* (Figure 1c) participe mais plus tardivement à la formation de la paroi du ventre entièrement incluse dans les tissus gamétophytiques. Ces demi-enveloppes se rejoignent au niveau de l'épiderme entourant ainsi l'oosphère et les cellules sécrétrices du canal d'un couche de cellules stériles, communément appelées « jacket cells » par les auteurs anglo-saxons (47).

Dès que la structure complète de l'archégone est acquise, survient, dans les cellules du canal, une augmentation importante du nombre des profils du réticulum endoplasmique et une migration de ceux-ci à la périphérie des cellules. Ils sont alors parallèles entre eux et à la membrane cytoplasmique. Il s'agit d'un réticulum de type rugueux bien que, comme cela est fréquent dans les cellules végétales, les ribosomes soient irrégulièrement disposés le long des membranes laissant çà et là des zones agraires.

En même temps l'appareil de Golgi se développe considérablement. Les dictyosomes sont généralement situés dans une zone comprise entre le noyau central et le réticulum endoplasmique périphérique. Ils apparaissent au début plus ou moins enroulés (Pl. II, fig. d), montrant à la périphérie une zone de grandes ampoules dilatées et claires généralement caractéristiques de la face de formation (26). Cet aspect des dictyosomes est très fugace car ils prennent bientôt une structure plus classique où tous les saccules qui les constituent sont empilés régulièrement et parallèlement les uns aux autres. Les formes aplaties dérivent des formes enroulées le plus souvent non par simple étalement mais, comme le montre l'examen de nombreux clichés pris à ce stade, par rupture des saccules en divers points : une forme enroulée donnant alors naissance à deux et parfois trois dictyosomes.

Les premiers signes de la sécrétion mucilagineuse apparaissent au niveau de la membrane ectoplasmique, à un stade relativement précoce puisque les deux noyaux de la cellule du col n'ont pas encore fusionné (53). Dans notre matériel, à la différence de ce qui se passe chez les Bryophytes, cette activité sécrétoire est limitée aux cellules de la rangée axiale.

Le plasmalemme s'invagine légèrement en de nombreux endroits, d'abord le long de la paroi transversale qui sépare la cellule du canal du col de la cellule ventrale (Pl. II, fig. a et b), provoquant la rupture de certains plasmodesmes (Pl. II, fig. c), ensuite seulement, mais plus fortement le long des parois longitudinales. Ils se forment ainsi de petites

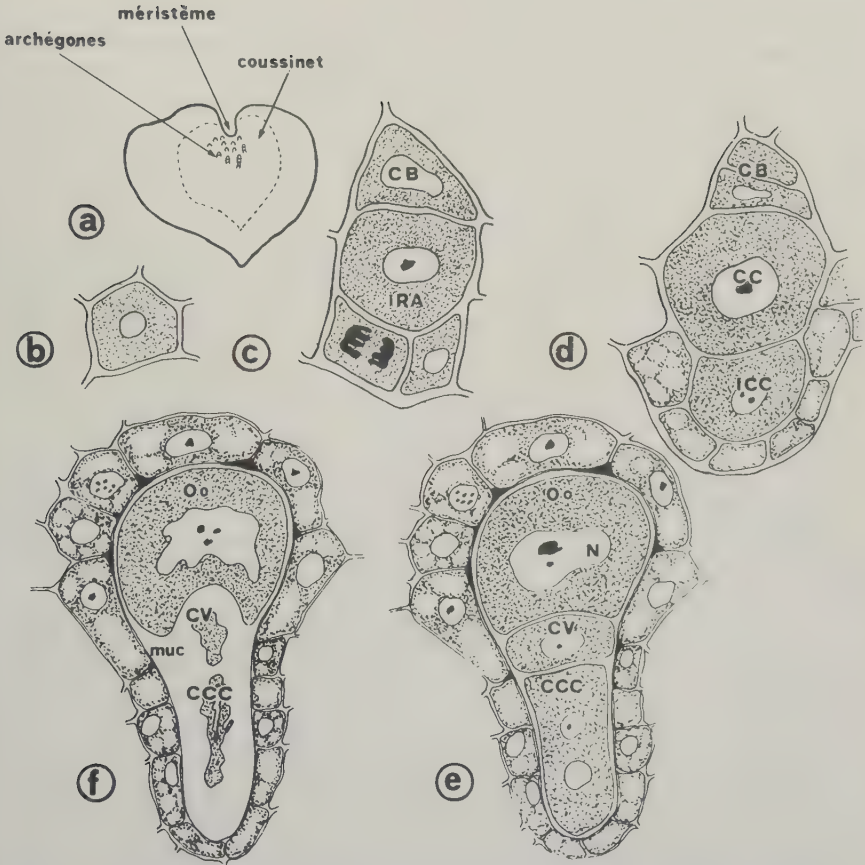


FIGURE 1. — Etapes de l'édification d'un archégone chez le *Pteridium aquilinum*.

- a. — Position des archégonies sur le coussinet, face ventrale du prothalle.
- b. — Initiale archégoniale.
- c. — Initiale de la rangée axiale (IRA), cellule basale (CB) et cellules de la paroi du col.
- d. — Cellule centrale (CC) et initiale du canal du col (ICC).
- e. — Rangée axiale complète comprenant l'oosphère (Oo), la cellule ventrale du canal (CV) et la cellule du canal du col binucléée (CCC).
- f. — Archégone peu avant la fécondation; cellule ventrale et cellule du canal du col font place à un mucilage brunâtre hydrophile (muc).

fossettes qui sont occupées dans la partie centrale par du matériel dense tandis que la zone périphérique reste claire. Le plasmalemme est lui-même toujours souligné extérieurement d'une pellicule sombre suggérant par là une participation, si non à la sécrétion elle-même, du moins au transfert puis à l'accumulation du mucilage à l'extérieur de la cellule à ce stade.

Lors du début de la formation du mucilage le contenu des vésicules golgiennes ne présente qu'une faible réactivité au test de mise en évidence des polyholosides (Pl. II, fig. *b*) mais très rapidement les extrémités dilatées des saccules golgiens et les vésicules périphériques voient leur contenu acquérir la même structure fine et le même contraste (Pl. III, fig. *c*) que le mucilage qui commence à s'accumuler le long des parois des cellules du canal. Ainsi la participation de l'appareil de Golgi à l'élaboration du mucilage est fondamentale et devient prépondérante sur celle du plasmalemma. Au sein même du dictyosome les processus sécrétoires présentent un caractère particulier. La polarité de sécrétion ne coïncide pas avec la polarité dorsiventrale de sa formation, sauf peut être durant une courte période au début de son activité. Les différents saccules d'un même dictyosome présentent très rapidement, comme c'est fréquemment le cas chez les plantes (15, 43), le même degré d'activité sécrétoire (Pl. VI, fig. *b* et *c*). Cette sécrétion mucilagineuse manifeste par contre une densité croissante allant du centre de chaque saccule vers sa périphérie comme cela est bien visible sur des coupes tangentielles (Pl. VII, fig. *a*). Il est facile de distinguer sur de telles coupes, trois zones :

- le centre gris homogène ;
- la zone plus externe des canalicules où le contraste s'accroît nettement ;
- celle des vésicules dont le contenu est totalement opaque aux électrons.

A ce stade la répartition des dictyosomes est à peu près uniforme dans les trois cellules avec toutefois une fréquence plus grande dans la zone cytoplasmique moyenne, à mi-chemin entre le noyau et la membrane cytoplasmique. Les plastes et les mitochondries sont plus abondants dans le cytoplasme périnucléaire tandis que le réticulum endoplasmique est essentiellement localisé à la périphérie. Ses cavités ne retiennent pas les grains d'argent et nous n'avons pas décelé la formation de vésicules qui puissent rappeler les « vésicules de transition » décrites dans les cellules animales (50). Ainsi, bien que son développement soit exceptionnellement important, aucun indice ne permet de lui attribuer pour l'instant un rôle dans l'élaboration du mucilage dont on ignore encore s'il renferme une fraction protéique.

B. Phase sécrétoire principale

A un stade plus avancé de la maturation de l'archégone l'évolution infra-structurale des cellules du canal peut se résumer ainsi :

- diminution générale du volume protoplasmique des cellules de la rangée axiale ; le mucilage sécrété prend place dans les espaces ainsi libérés par le retrait cytoplasmique si bien que le volume total du contenu archégonial ne varie pas ;

— fusion des deux noyaux de la cellule du canal du col. Le contour de ce noyau diploïde devient très irrégulier avec de profondes invaginations du cytoplasme (Pl. V). Il s'agit d'un début de dégénérescence pycnotique (57) ;

— régression importante des thylacoïdes avec cependant conservation des lentilles d'amidon. Les mitochondries sont très peu modifiées ;

— apparition de nombreuses zones cytoplasmiques claires non limitées par une membrane (Pl. VI, fig. c).

Ces remaniements infrastructuraux n'altèrent nullement l'activité sécrétoire des cellules qui s'intensifie. Les dictyosomes sont entourés d'un nombre très important de vésicules dont le contenu est d'autant plus contrasté qu'elles se trouvent plus éloignées du dictyosome. Il y a parfois coalescence de plusieurs vésicules golgiennes et mélange de leur contenu, ce qui aboutit à la formation de petites enclaves mucilagineuses au sein même du cytoplasme. C'est à ce stade que l'on rencontre fréquemment des dictyosomes ayant subi une altération dans la région médiane qui apparaît alors estompée avec quelques enroulements membranaires de type myélinique (Pl. VII, fig. b).

L'oosphère elle-même sécrète, à ce stade, de faibles quantités de mucilage qui viennent souligner son contour plus ou moins sphérique, principalement dans la partie tournée vers l'axe du col (Pl. IV, fig. a). Le long de cette ancienne cloison, la sécrétion débute dans la partie périphérique et gagne tardivement le centre, zone restée le plus longtemps en contact avec les cellules sus-jacentes (Pl. IV, fig. a). Cette sécrétion de la cellule reproductrice est un peu plus complexe que celle présentée par les cellules de l'axe du col archégonial. On distingue en effet deux types de produits à structure et à comportement différents. Le premier s'accumule le long du plasmalemma (Pl. VIII, fig. a et Pl. IX, fig. a) en soulignant fidèlement la sinuosité de celui-ci et forme, au cours des premières phases de l'oogenèse, un revêtement continu dont l'épaisseur ne dépasse pas en général 300 μm . Il correspond à la membrane spéciale décrite par Bell (2). Très dense aux électrons, il réagit très rapidement (2 heures) et intensément au test des polysaccharides. Le second produit, plus clair présente les mêmes caractères que le mucilage sécrété par les cellules du col (Pl. VIII, fig. a).

Bien que la sécrétion mucilagineuse des cellules axiales du col présente une évolution continue, une nouvelle étape peut être définie en considérant les modifications intervenant dans les processus d'accumulation des produits élaborés qui ne se fait plus obligatoirement à l'extérieur des cellules mais le plus souvent dans des poches intracytoplasmiques nées de la coalescence de très nombreuses vésicules golgiennes. On trouve de telles poches dans le cytoplasme périphérique dont le contenu ne tarde

pas du fait de la rétraction et de la désintégration du cytoplasme de cette zone, à se trouver incorporé au mucilage extracellulaire (Pl. IX, fig. b).

La texture même du mucilage, se modifie légèrement. Il apparaît alors le plus souvent sous forme d'un réseau dense qui s'insinue entre des plages claires ou grises (Pl. IX, fig. c).

C. Etape ultime de l'évolution

Il ne persiste bientôt plus, dans la cavité du canal archégonial, que quelques lambeaux de cytoplasme contenant quelques organites parfois difficiles à identifier. Les mitochondries sont ceux qui demeurent le plus longtemps reconnaissables. Les parois transversales qui séparent entre elles les cellules du canal sont totalement détruites tandis que les parois longitudinales qui appartiennent pour moitié aux cellules de la paroi du col persistent encore de façon nette, limitant intérieurement une cavité entièrement occupée par le mucilage (Pl. X, fig. a) et, à la partie basale, par l'oosphère prête à être fécondée. Celle-ci, décollée de sa paroi cellulosique, baigne dans cette sécrétion mucilagineuse qui lui permet une éventuelle réorientation. C'est à la fin de cette période de maturation que le col de l'archégone va s'ouvrir par rupture du ciment pectique qui unit les cellules du sommet du col. Le mucilage tend à se répandre hors du col en se gonflant et provoque une attraction nette et rapide sur l'orientation des spermatozoïdes. De l'eau provenant du milieu externe pénètre dans le canal du col et vient modifier à nouveau la structure du mucilage. Il ne persiste d'abord que des fibrilles (Pl. X, fig. b) beaucoup moins denses au centre qu'à la périphérie du canal. Une fraction très soluble du mucilage a rapidement disparu par cette arrivée d'eau. Les fibrilles elles-mêmes se dissolvent ensuite si bien que lorsque les spermatozoïdes pénètrent dans le col il ne persiste presque plus de substance réactive au test utilisé, probablement par dilution extrême des produits glucidiques restant.

II. Essais de digestions enzymatiques

La technique principalement utilisée ici détectant globalement les polyholosides dans la cellule, il apparaît nécessaire d'y adjoindre d'autres réactions capables d'apporter quelques précisions supplémentaires sur la nature du mucilage. Deux types d'extraction enzymatique furent tentés : l'*amylase* détruit totalement les réserves amylacées des plastes mais respecte la sécrétion mucilagineuse tandis que la *pectinase*, qui n'intervient que très faiblement au niveau des lentilles d'amidon, entraîne une disparition presque totale des précipités argentiques normalement fixés au niveau de l'espace péricellulaire et un éclaircissement important du contenu des structures golgiennes (Pl. VII, fig. c). On doit donc penser que ce mucilage contient en particulier des molécules du type des pectines qui

sont des polyholosides acides constitués en grande partie d'acide galacturonique (19, 43). Par contre la « membrane spéciale » de l'oosphère résiste aussi bien à l'action de l'amylase qu'à celle de la pectinase (Pl. VIII, fig. b). Par conséquent cette distinction entre membrane spéciale et mucilage au niveau de l'oosphère, établie à partir de caractères morphologiques et de temps d'action de la thiocarbohydrazide différents repose bien sur des différences de nature chimique. L'oosphère présente donc deux types de sécrétions polyholosidiques que l'activité sécrétoire des cellules du canal est homogène à cet égard. L'approche cytochimique des sécrétions polysaccharidiques de l'oosphère peut être précisée par l'application de diverses techniques récemment adaptées au matériel végétal (38, 39, 42, 43) comme nous le montrerons dans un prochain travail.

DISCUSSION

1. Le mode de sécrétion

1. Nous avons vu que dès la mise en place des cellules les premiers signes de la sécrétion mucilagineuse apparaissent au niveau du plasmalemme et qu'à ce stade précis les dictyosomes sont en nombre restreint, d'aspect juvénile et non sécréteur. Il est donc fort possible que le plasmalemme manifeste une activité sécrétrice propre. Une telle activité a déjà été signalée dans divers matériaux végétaux (35, 36, 39) et en particulier dans le col de l'archégone des Bryophytes (55, 56) où l'on retrouve le même type de fossettes sécrétrices contenant du matériel marqué par la réaction.

Même en dehors des fossettes le plasmalemme est entièrement souligné par une couche sombre, ce qui indique l'existence d'un revêtement glucidique continu de la surface cellulaire. Ce revêtement n'est pas sans rappeler le glycoleme ou « cell coat » décrit dans les cellules animales (4, 28, 33) et ces formations associées au plasmalemme qui lui ont récemment assimilées dans le matériel végétal (39). Il est toujours distinct de la paroi cellulosique, dont il s'en sépare aisément en particulier dans le cas de la cellule reproductrice.

2. Le rôle de l'appareil de Golgi dans la synthèse des polysaccharides a été très étudié dans divers matériels animaux (5, 11, 49, 50) et végétaux (21, 22, 23, 24, 25, 31, 41, 43, 44, 46). Nos observations ne font que confirmer la part importante qu'il prend dans la sécrétion de ce type de mucilage végétal, qui correspond à une exaltation du processus par lequel il produit généralement la matrice non cellulosique de la paroi. Si la polarité de formation des dictyosomes semble correspondre à celle classiquement décrite dans les cellules animales par exemple, leur activité sécré-

trice présente toutefois une différence assez nette. La polarité de sécrétion y est centrifuge pour chaque saccule et non plus dorsi-ventrale pour l'ensemble des saccules. Les vésicules émises le sont donc essentiellement à la périphérie et non principalement sur la face ventrale comme cela semble être de règle chez les animaux. Les vésicules golgiennes continuent à augmenter de volume à mesure qu'elles s'éloignent du dictyosome en même temps que la quantité des polyholosides s'accroît, mettant ainsi en évidence la poursuite de l'activité sécrétrice de la paroi des vésicules golgiennes après leur libération.

Que la production de mucilage procède, en parts très inégales certes, de l'activité de l'appareil de Golgi et du plasmalemm ne doit pas surprendre. Les vésicules golgiennes prennent en effet une part de plus en plus grande au cours de la sécrétion, à la formation même de la membrane plasmique des cellules sécrétrices. Elles viennent verser leur contenu à l'extérieur de la cellule et la membrane qui constitue leur paroi se confond alors avec le plasmalemm, lui-même provenant de la fusion des vésicules golgiennes apparues lors de la formation des plaques cellulaires des cellules mères. Il en est de même lorsque les vésicules confluent entre elles forment de vastes poches intracytoplasmiques dont le contenu se trouve tôt ou tard incorporé au milieu extérieur et dont la paroi constitue des parties importantes de la surface cellulaire. La cavité des saccules golgiens est en fait destinée à entrer en continuité avec le milieu extérieur et les parois de ces saccules sont de futurs éléments de la membrane plasmique.

3. Si le rôle de l'appareil de Golgi dans cette sécrétion mucilagineuse apparaît clairement démontré, il n'en est pas de même pour celui du réticulum endoplasmique dont l'important développement ne semble correspondre à aucune activité élaboratrice de glucides. La surface qu'il développe dans ces cellules sécrétrices est sans commune mesure avec celle qu'il présente dans les cellules voisines. Les nappes y sont nombreuses et bien parallèles entre elles ce qui est généralement considéré comme la manifestation d'une activité métabolique intense, en particulier dans la synthèse des molécules protéiques (16, 20).

Sa position, toujours périphérique, est peu compatible avec « la morphologie de sécrétion » habituellement décrite dans les cellules sécrétant des mucopolysaccharides (49, 50), et qui prévoit un cheminement allant de la partie profonde de la cellule vers la surface empruntant la filière réticulum-vésicules de transition-Golgi. Par ailleurs, l'examen de nombreux clichés ne nous a pas permis de retrouver ces vésicules intermédiaires, ni même de véritables bourgeonnements à la surface des profils du réticulum. Dans le matériel végétal la présence de telles vésicules de transition semble d'ailleurs n'avoir jamais été signalée et, l'existence de rapports

entre réticulum et Golgi, autres que ceux de contiguité, reste à démontrer (20, 26). Ainsi aucun indice infrastructural ne vient confirmer l'existence d'une combinaison possible entre les polyholosides et des molécules protéiques comme cela se produit généralement dans les cellules muqueuses animales (49, 50).

Des dispositions analogues du réticulum endoplasmique se retrouvent dans quelques glandes végétales (7, 8, 12, 14, 40, 41, 44, 46), dans certaines cellules sécrétrices (17, 21, 24, 25, 43) ou cellules « mucigènes » de Bryophytes (6), mais les auteurs n'ont pas envisagé, dans la plupart des cas, l'éventualité d'une sécrétion de nature protéique.

Le rôle direct du réticulum endoplasmique dans la sécrétion demeure encore actuellement mal élucidé dans la cellule végétale (41). Son intervention dans la sécrétion de matériaux membranaires a été signalée à plusieurs reprises (9, 27) et en particulier dans les dépôts de matériel callosique des éléments criblés du phloème (10). Or il se trouve que la callose a été précisément détectée dans la paroi des cellules de la rangée axiale de l'archégone de certaines Bryophytes et Ptéridophytes (13).

Dans notre matériel, l'absence de polyholosides dans le réticulum endoplasmique ne saurait être définitivement affirmée sans le recours à d'autres techniques en particulier autoradiographiques.

4. Il convient enfin de souligner la relative indépendance des différents organites cytoplasmiques vis-à-vis du noyau. La dégénérescence pycnotique qu'ils subissent aboutit, au cours de l'« étape ultime de l'évolution », à leur complète désintégration. L'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique sont très sensibles à cette disparition nucléaire tandis que les plastes et surtout les mitochondries (Pl. X, fig. b) conservent quelques temps encore une apparente intégrité. Or, on note une très nette différence de densité du mucilage entre la zone périphérique sécrétée par la cellule nucléée et la partie centrale laissée par la cellule anucléée. Ces faits sont à rapprocher des modifications de la structure pariétale de certaines algues, édifiée avant, puis après énucléation (51).

II. Nature des substances sécrétées

Le volume des substances sécrétées, pour un archégone en fin d'évolution est très faible. Il ne représente que celui de trois cellules superposées soit 0,004 mm³ environ. Les archégonies portés par un même gamétophyte ne sont pas tous, à un moment donné, au même stade de leur évolution, et aucun indice morphologique ne permet de déterminer précisément ce stade ; aussi l'extraction spécifique des substances sécrétées apparaît-elle très délicate. Nous ne pourrions, dans ce domaine, que recourir à des méthodes de détection cytochimiques.

On ne possède jusqu'à maintenant que peu de renseignements sur la nature des substances sécrétées. On attribue, depuis les travaux déjà anciens de Pfeffer (29), à la présence d'acide malique l'action qu'exerce ce sécrétat sur l'orientation et les mouvements des spermatozoïdes lorsqu'il s'échappe du col archégonial lors de la déhiscence des parois. S'il est vrai que l'acide malique, même à des doses très faibles, possède des propriétés analogues, sa présence au sein du mucilage ne semble pas avoir reçu de confirmations récentes (18). On sait également, depuis les travaux de Gorska-Bryllass (13), que la callose se dépose au niveau des parois de certaines cellules de la rangée axiale d'un jeune archégone. Ce polyholoside a été mis en évidence par les techniques au bleu de résorcine et par fluorescence dans une solution de bleu d'aniline chez deux espèces de Fougères : *Adiantum cuneatum* et le *Pteris cretica*. Ces deux espèces sont assez proches du *Pteridium aquilinum*, objet de notre étude, il est donc possible sinon probable que de la callose s'y trouve également. La présence de cette substance est transitoire et elle a déjà disparu au moment de l'ouverture du col de l'archégone.

Le mucilage sécrété apparaît donc formé de glucides, détectés globalement par la méthode au TCH. En microscopie photonique, le mucilage se colore en rouge par la réaction à l'acide periodique-Schiff et par le rouge de ruthénium, et en bleu par le bleu alcian en milieu alcalin. Ces deux dernières réactions laissent présager (19) qu'il pourrait s'agir de polyholosides acides. La disparition quasi totale du mucilage enregistrée après digestion à la pectinase, confirme ce premier diagnostic. En microscopie électronique la spécificité de la réaction à l'acide periodique-carbohydrazide-protéinate d'argent est aussi bonne sur le matériel animal que végétal (43, 50). Elle peut d'ailleurs être contrôlée par des préparations témoin (Pl. VII, fig. d). Bien qu'il s'agisse d'une méthode globale, elle possède deux propriétés (50) qui nous apportent de précieux renseignements sur la nature des produits révélés, le temps nécessaire à la réaction et l'abondance relative des dépôts d'argent.

Si les polyholosides purs de haut poids moléculaire, comme l'amidon contenu dans les plastes, réagissent après un temps d'action de la thio-carbohydrazide très court (1 à 2 heures) le mucilage ne se révèle correctement que pour des temps supérieurs à 8 heures. La mise en évidence du contenu des vésicules golgiennes nécessite de prolonger cette action jusqu'à 18 ou 24 heures. Les temps d'action plus longs encore (jusqu'à 72 heures) n'apportent pas d'indications supplémentaires. Selon Thiéry (50) « la marche de la réaction permet dans une certaine mesure de déterminer la nature des hydrates de carbone révélés », ainsi le mucilage nécessitant un temps d'action plus long que l'amidon, est probablement composé de molécules soit de plus faible poids moléculaire soit complexées à des protéines que les techniques utilisées aussi bien en microscopie photo-

nique qu'électronique ne peuvent mettre en évidence. Pour la même raison le contenu des vésicules golgiennes est probablement moins polymérisé que le matériel rejeté hors de la cellule. De même l'abondance des dépôts argentiques étant proportionnelle à la quantité de polysaccharides présents (50) il est aussi possible de suivre le mécanisme de concentration des sucres à l'intérieur des saccules golgiens et dans les vésicules golgiennes à mesure que celles-ci s'éloignent du dictyosome qui les a engendré. Ce phénomène de concentration progressive et de polymérisation est en accord avec les observations faites sur matériel animal (5, 26, 49, 50) et végétal (36, 37, 39, 41, 43, 46).

CONCLUSION

Ainsi, les sécrétions mucilagineuses de l'archégone des Fougères proviennent pour une part essentielle d'une activité importante de l'appareil de Golgi dont le développement atteint ici un niveau rencontré dans aucune autre cellule du gamétophyte. Il n'est cependant pas exclu que la membrane cytoplasmique participe, elle aussi, à l'élaboration de certains composés polysaccharidiques, du moins au tout début de la phase sécrétoire des cellules, lorsque les dictyosomes ne sont pas encore sécréteurs. Si les mécanismes de synthèse des composés polyholosidiques de ce mucilage sont identiques à ceux qui interviennent au cours de l'édification des parois végétales (35, 36), dans les cellules glandulaires (7, 41, 42, 43, 44, 45, 46) ou mucigènes (6), il y a cependant ici non pas simple rejet à l'extérieur d'un matériel synthétisé, mais une véritable destruction, finalement totale, des cellules sécrétrices et leur remplacement progressif par le mucilage. Ce type de cellules glandulaires est bien particulier et fort peu répandu dans le règne végétal (8). Il correspond, selon la terminologie adoptée en Biologie animale, à la sécrétion dite holocrine (32) puisque la cellule sécrétrice tout entière est finalement détruite. C'est précisément ce qui survient dans le cas des cellules à mucus.

En cytologie végétale, le processus sécrétoire qui ressemble le plus à celui que nous étudions ici est celui qui a été décrit pour le col archégonial des Bryophytes dont les cellules axiales ont une activité et une destinée identiques (55, 56). Il existe cependant quelques différences parmi lesquelles nous devons retenir l'absence de production du mucilage par les cellules de la paroi du col et le développement beaucoup plus important pris par le réticulum endoplasmique dans les cellules du canal. Ce dernier point semble devoir retenir l'attention car il n'a pas été possible d'établir une relation entre son développement important et sa disposition bien régulière à la périphérie de ces cellules et une éventuelle intervention dans le mécanisme de sécrétion glucidique. Il convient donc de rechercher la

présence éventuelle d'une sécrétion protéique à ce niveau en ayant recours à des techniques appropriées ; telles que digestions enzymatiques spécifiques et autoradiographie à haute résolution.

RÉSUMÉ

L'archégone, appareil reproducteur ♀, du *Pteridium aquilinum* renferme dans sa cavité interne au terme de son développement, quatre cellules : l'oosphère et trois cellules sécrétrices de mucilage. La sécrétion mucilagineuse, du type holocrine, se poursuit normalement durant toute la maturation de l'oosphère jusqu'à la fécondation. Les substances glucidiques qui entrent dans la composition de ce mucilage prennent naissance dans les saccules de l'appareil de Golgi, se concentrent dans les vésicules golgiennes et sont évacuées par celles-ci dans l'espace péricellulaire. Ce phénomène correspond à une exaltation du processus par lequel l'appareil de Golgi produit généralement la matrice non cellulosique de la paroi végétale. Le plasmalemme semble jouer également un rôle dans le transfert puis dans l'accumulation du mucilage à l'extérieur des cellules, du moins au tout début de la période sécrétoire.

Le réticulum endoplasmique, par contre, malgré le développement important et la disposition bien particulière qu'il présente dans ces cellules sécrétrices, ne contribue apparemment pas à l'élaboration du mucilage. Il n'a pas de relations avec l'appareil de Golgi et le produit excrété, au contraire de ce qui se produit dans la cellule animale sécrétrice de mucus. Il conviendrait de rechercher la présence éventuelle d'un composant protéique du mucilage dans la sécrétion duquel le réticulum endoplasmique pourrait être impliqué.

SUMMARY

The archegonium of *Pteridium aquilinum* consists of four cells at maturity : the reproductive cell and three mucilaginous secretory ones. Secretion in the latter is of the holocrine type and persists during oosphere maturation until fertilization. Polysaccharidic mucilaginous substances come from Golgi cisternae, concentrate in Golgi vesicles and are evacuated by these vesicles out of the cells. This phenomenon is but an exaltation of the process by which the Golgi produces the non cellulosic matrix of the cell wall. The plasmalemma, plays a part in the transfer and outward storage of mucilage, at least at the beginning of the secretory period.

The endoplasmic reticulum, in spite of its large expansion and of its particular disposition in these secretory cells, takes no part in originating mucilaginous substances. It appears no relation between the Golgi apparatus and mucilaginous substances. It may be necessary, however, to look for a possible proteic secretion, perhaps from the endoplasmic reticulum, in these plant cells as well.

BIBLIOGRAPHIE

1. BEAMS H.W. and KESSEL R.G., 1968. The Golgi apparatus : structure and function. *Int. Rev. Cytol.*, **23**, 209-276.
2. BELL P.R. and MÜHLETHALER K., 1962. A membrane peculiar to the egg in the gametophyte of *Pteridium aquilinum* (L.) Kühn. *Nature*, **195**, n° 4837, 198.
3. BELL P.R. and MÜHLETHALER K., 1962. The fine structure of the cells taking part in oogenesis in *Pteridium aquilinum* (L.) Kühn. *J. Ultrastructure Res.*, **7**, 452-466.
4. BENNETT H.S., 1963. Morphological aspects of extracellular polysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.*, **II**, 15-23.
5. BERLIN J.D., 1967. The localization of acid mucopolysaccharides in the Golgi complex of intestinal goblet cells. *J. Cell Biol.*, **32**, 760-766.
6. BONNOT E.J. et HEBANT C., 1970. Précisions sur la structure et le fonctionnement des cellules mucigènes de *Polytrichum juniperinum* Willd. *C.R. Acad. Sc.*, **271**, 53-55.
7. BOUCHET P., 1971. Localisation et ultrastructure des cellules à mucilage différenciées de la rose trémière *Althea rosea*. *Bull. Soc. Bot.*, **118**, 37-46.
8. BOUCHET P. et DEYSSON G., 1971. Aspects ultrastructuraux de la différenciation des cellules à mucilage de la rose trémière *Althea rosea*. *C.R. Acad. Sc.*, **272**, 819-822.
9. BUVAT R., 1963. Infrastructure et différenciation des cellules criblées de *Cucurbita pepo* L. Relations entre la membrane pectocellulosique et les membranes plasmiques du cytoplasme. *C.R. Acad. Sc.*, **257**, 221-224.
10. ESAU K. and CRONSHAW J., 1968. Endoplasmic reticulum in the sieve element of *Cucurbita*. *J. Ultrastructure Res.*, **23**, 1-14.
11. FAVARD P., 1969. The Golgi apparatus. In *Handbook of molecular cytology*. Lima de Faria A., ed., North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 1130-1155.
12. FIGIER J., 1968. Etude infrastructurale et cytochimique des glandes pétiolaires de *Mercurialis annua* L. Essai d'interprétation en rapport avec la sécrétion. *C.R. Acad. Sc.*, **267**, 491-494.
13. GORSKA-BRYLASS A., 1968. Occurrence of callose in gametogenesis in Pteridophyta. *Bull. Acad. Pol. Sc.*, **16**, 757-759.
14. HORNER H.T. and LERSTEN N.R., 1968. Development, structure and function of secretory trichomes in *Psychotria bacteriophila* (Rubiaceae). *Amer. J. Bot.*, **55**, 1089-1099.
15. HRSEL I., 1965. Morphology and function of the Golgi apparatus. *Biol. Plant.*, **7**, 437-448.
16. HRSEL I., 1966. Morphology and function of the endoplasmic reticulum. *Biol. Plant.*, **8**, 36-52.
17. JUNIPER B.E. and ROBERTS R.M., 1966. Polysaccharide synthesis and the fine structure of root cells. *J. Roy. Micr. Soc.*, **85**, 63-72.
18. MACHLIS L. and RAWITSCHER-KUNDEL E., 1967. Mechanisms of gametic approach in plants. In *Fertilization*. Acad. Press., **1**, 117-161.
19. MARTOJA R. et MARTOJA M., 1967. *Initiation aux techniques de l'histologie animale*. Masson, Paris.
20. MESQUITA J.F., 1970. Ultrastructura do meristema radicular de *Allium cepa* L. Thèse, Coimbra.

21. MOLLENHAUER H.H., WHALEY W.G. and LEECH J.H.K., 1961. A function of the Golgi apparatus in outer root cap cells. *J. Ultrastructure Res.*, **5**, 193-200.
22. MOLLENHAUER H.H. and WHALEY W.G., 1963. An observation on the functioning of the Golgi apparatus. *J. Cell Biol.*, **17**, 222-225.
23. MOLLENHAUER H.H. and MORRÉ D.J., 1966. Golgi apparatus and plant secretion. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **17**, 27-46.
24. MOLLENHAUER H.H., 1967. The fine structure of mucilage secreting cells of *Hibiscus esculentus* pods. *Protoplasma*, **63**, 353-362.
25. MOLLENHAUER H.H., 1967. A comparison of root cap cells of epiphytic, terrestrial and aquatic plants. *Amer. J. Bot.*, **54**, 1249-1259.
26. MORRÉ D.J., MOLLENHAUER H.H. and BRACKER C.E., 1971. In *Origin and continuity of cell organelles*. II. Results and problems in cell differentiation. Springer-Verlag ed., Berlin.
27. NEWCOMB E.H., 1963. Cytoplasm-cell wall relationships. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **14**, 43-64.
28. O'NEIL C.H., 1964. Isolation and properties of the cell surface membrane of *Amoeba proteus*. *Exp. Cell Res.*, **35**, 477-496.
29. PFEFFER W., 1884. Locomotorische Richtung Bewegungen durch chemische Reize. *Untersuch. Botan. Inst. Tübingen*, **1**, 363-482.
30. PICKETT-HEAPS J.D., 1967. Preliminary attempts at ultrastructural polysaccharide localization in root tip cells. *J. Histochem. Cytochem.*, **15**, 442-455.
31. PICKETT-HEAPS J.D., 1967. Further observations on the Golgi apparatus and its functions in cells of the wheat seedling. *J. Ultrastructure Res.*, **18**, 287-303.
32. POLICARD A., 1966. *Eléments de physiologie cellulaire*. Masson, Paris.
33. RAMBOURG A., 1969. Localisation ultrastructurale et nature du matériel coloré au niveau de la surface cellulaire par le mélange chromique phosphotungstique. *J. Microscopie*, **8**, 325-342.
34. REYNOLDS E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **17**, 208.
35. ROLAND J.C., 1969. Mise en évidence sur coupes ultrafines de formations polysaccharides directement associées au plasmalemme. *C.R. Acad. Sc.*, **269**, 939-942.
36. ROLAND J.C. et SANDOZ D., 1969. Détection cytochimique des sites de formation des polysaccharides pré-membranaires dans les cellules végétales. *J. Microscopie*, **8**, 263-268.
37. ROLAND J.C., 1970. Extractions enzymatiques ou chimiques de polysaccharides cellulaires végétaux. Applications à l'étude des parois. VII^e Congrès intern. Microscopie Electronique, Grenoble, Favard P., ed., Soc. Fr. Micros. Electron., Paris, **III**, 115-116.
38. ROLAND J.C. et VIAN B., 1970. Précisions sur la localisation et les caractères ultrastructuraux de polysaccharides acides dans les cellules végétales. *C.R. Acad. Sc.*, **271**, 572-575.
39. ROLAND J.C. et VIAN B., 1971. Réactivité du plasmalemme végétal. Etude cytochimique. *Protoplasma*, **73**, 121-137.
40. ROUGIER M., 1965. Ultrastructure des squamules d'*Elodea canadensis* (Hydrocharidacée) et *Potamogeton perfoliatus* (Potamogetonacée). *J. Microscopie*, **4**, 523-530.

41. ROUGIER M., 1969. L'ultrastructure et la fonction des squamules de Monocotylédones aquatiques. Etude cytochimique de leur sécrétion polysaccharidique. *Thèse, Sc. nat., Poitiers*.
42. ROUGIER M., 1970. Origine des polysaccharides pectiniques décelées dans la paroi des cellules végétales. Etude cytochimique. VII^e Congrès intern. Microscopie Electronique, Grenoble, Favard P., ed., *Soc. Fr. Micros. Electron.*, Paris, **I**, 585-586.
43. ROUGIER M., 1971. Etude cytochimique de la sécrétion des polysaccharides végétaux à l'aide d'un matériel de choix : les cellules de la coiffe de *Zea mays*. *J. Microscopie*, **10**, 67-82.
44. SCHNEPF E., 1961. Quantitative Zusammenhänge zwischen der Sekretion des Fangschleimes und den Golgi-Strukturen bei *Drosophyllum lusitanicum*. *Z. Naturforsch.*, **16b**, 605-610.
45. SCHNEPF E., 1968. Feinstruktur der schleimsezernierenden Drüsenhaare auf der *Ochrea* von *Rumex* und *Rheum*. *Planta*, **79**, 22-34.
46. SCHNEPF E., 1969. Sekretion und Exkretion bei Pflanzen. *Protoplasma-logia*, Springer, Vienne, **8**, 1-181.
47. SMITH G.M., 1955. *Cryptogamic botany*. McGraw-Hill, New York, **II**.
48. THIÉRY J.P., 1967. Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscopie*, **6**, 987-1018.
49. THIÉRY J.P., 1968. Mise en évidence de muco et de glycoprotéines dans l'appareil de Golgi. IV^e Regional Conference on Electron Microscopy. Rome, Steve Bocciarelli D., ed., **II**, 59-60.
50. THIÉRY J.P., 1969. Rôle de l'appareil de Golgi dans la synthèse des mucopolysaccharides. Etude cytochimique. I. Mise en évidence de mucopolysaccharides dans les vésicules de transition entre l'ergastoplasme et l'appareil de Golgi. *J. Microscopie*, **8**, 689-708.
51. TOURTE M., 1972. Ultrastructural investigations on anucleate cells in *Micrasterias fimbriata*. Intern. Symp. Biol. and Radiol. anucleate Systems Mol. (Belgium), Academic Press, New York, **II**, 193-223.
52. TOURTE Y., 1967. Contribution à l'étude de la sexualité d'une Fougère Leptosporangée en culture pure. *Revue gén. Bot.*, **74**, 197-223.
53. TOURTE Y., 1969. Interprétation des structures du sac embryonnaire des Angiospermes à la lumière des études de l'oogenèse chez les Ptéridophytes. *Rev. Cyt. Biol. vég.*, **32**, 241-251.
54. TOURTE Y., 1970. Evolution des structures nucléolaires au cours de la gamétogenèse femelle du *Pteridium aquilinum*. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **117**, 199-208.
55. VIAN B., BARBIER C. et CRÉPIN D., 1970. Observations sur la sécrétion de mucilages pendant la gamétogenèse de quelques Bryophytes. VII^e Congrès intern. Microscopie Electronique, Grenoble, Favard P., ed., *Soc. Fr. Micros. Electron.*, Paris, **III**, 441-442.
56. VIAN B., BARBIER C. et REIS-CRÉPIN D., 1970. Données sur l'élaboration et l'évolution de mucilage dans le col de l'archégone de *Mnium undulatum*. *C.R. Acad. Sc.*, **271**, 1978-1981.
57. VAZART J., 1956. Etude cytologique de la reproduction sexuée chez quelques Ptéridophytes. *Rev. Cyt. Biol. Vég.*, **17**, 263-402.

Manuscrit reçu le 28 janvier 1972.

Accepté pour publication le 2 août 1972.

Techniques

Acu-Pb : contraste à l'acétate d'uranyle-citrate de plomb.

AP-TCH-Ag : acide periodique-thiocarbohydrazide-protéinate d'argent.

Abréviations utilisées sur les planches

<i>A</i> ,	amidon	<i>muc</i> ,	mucilage
<i>CC</i> ,	cellule centrale	<i>N</i> ,	noyau
<i>CCC</i> ,	cellule du canal du col	<i>nu</i> ,	nucléole
<i>CV</i> ,	cellule ventrale	<i>Oo</i> ,	oosphère
<i>D</i> ,	dictyosomes	<i>Pl</i> ,	plaste
<i>ICC</i> ,	cellule initiale du canal	<i>PL</i> ,	paroi longitudinale
<i>L</i> ,	lipide	<i>Plas</i> ,	plasmodesme
<i>m</i> ,	mitochondrie	<i>PT</i> ,	paroi transversale
<i>mb</i> ,	membrane cytoplasmique	<i>re</i> ,	réticulum endoplasmique
<i>mb sp</i> ,	membrane spéciale de l'oosphère	<i>V</i> ,	vacuole
		<i>Vg</i> ,	vésicule golgienne

Planche I. — Edification de l'archégone.

Fig. a. — Coupe semi-fine ; hématoxyline ferrique. Jeune archégone à rangée axiale bicellulaire ; $\times 1\,300$.

Fig. b. — Méthode AP-TCH-Ag. Cellule du canal du col à l'état binucléé. La caryocinèse n'est pas suivie de la cytodiérèse. Le cytoplasme est riche en organites. Il y a relativement peu de vacuoles, localisées aux deux pôles de la cellule ; $\times 7\,500$.

Fig. c. — Méthode AP-TCH-Ag. Détail de la région périphérique de cette cellule. Réactivité bien plus nette du plasmalemme que des autres membranes intracytoplasmiques ; $\times 74\,000$.

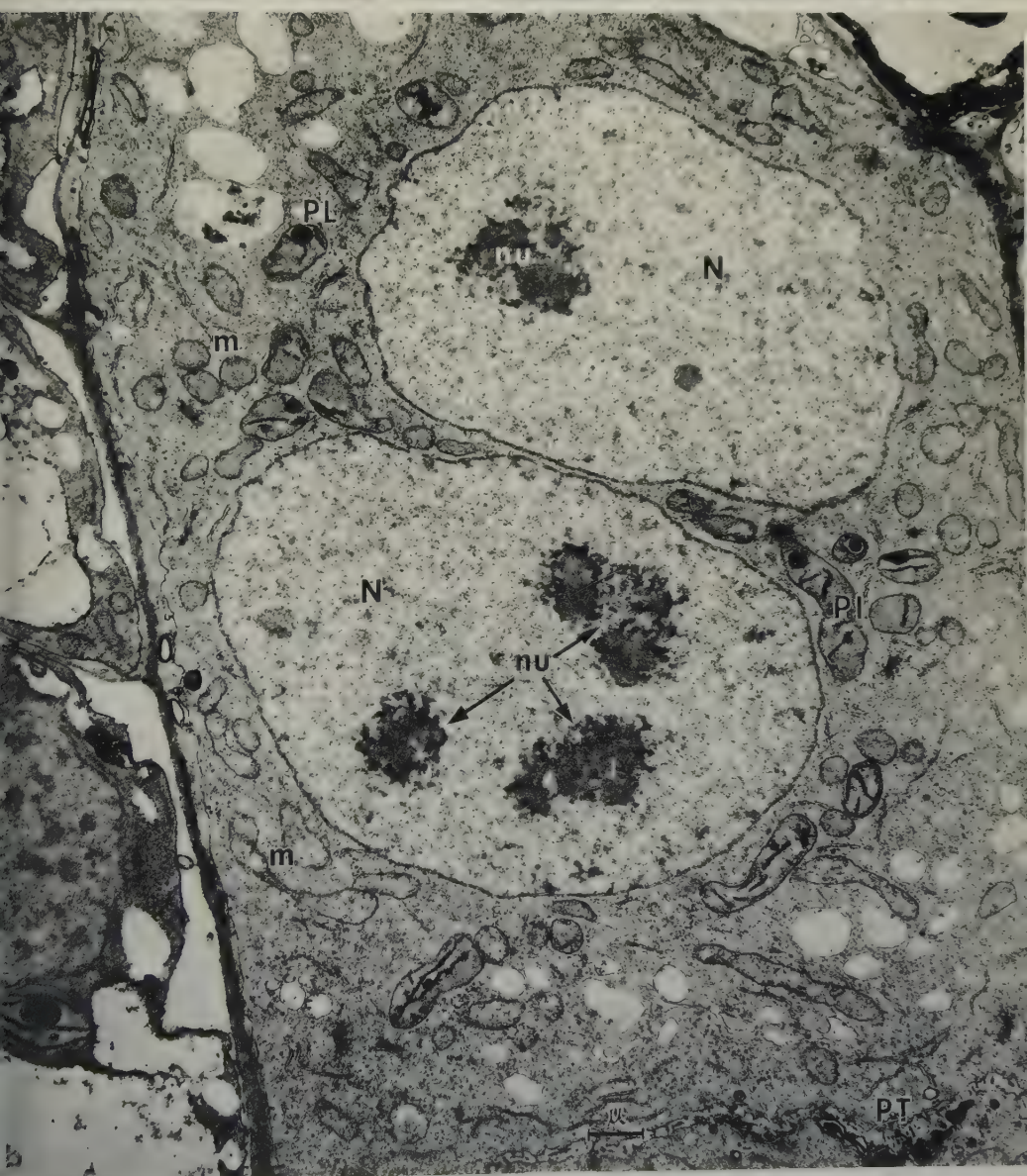
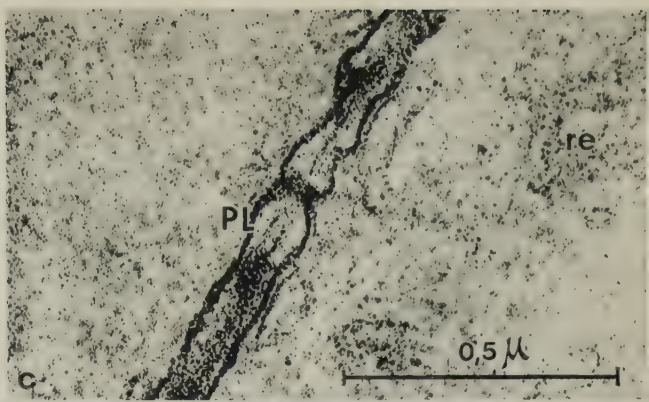


Planche II. — Début de la sécrétion mucilagineuse.

Fig. a, b et c. — Méthode AP-TCH-Ag.

Fig. d. — AcU-Pb.

Fig. a. — Jeune archégone à rangée axiale complète. Parois cellulotiques et amidon contenu dans les plastes sombres. Un léger dépôt de produits mucilagineux commence à apparaître le long de la paroi transversale (/) qui sépare la cellule ventrale de la cellule du canal du col ; $\times 9\ 000$.

Fig. b. — Détail de la paroi séparant la cellule du canal du col de la cellule ventrale. Le plasmalemme est souligné par un produit opaque qui commence à s'accumuler dans de petites fossettes ; celles-ci, en s'invaginant, entraînent la rupture de certains plasmodesmes. Profils du réticulum endoplasmique dispersés ; contenu des vésicules golgiennes clair ; $\times 25\ 200$.

Fig. c. — Détail d'une fossette au début de la sécrétion. Des filaments polyholosidiques reliant le plasmalemme à la paroi pectique ; $\times 4\ 000$.

Fig. d. — Dictyosome de type « enroulé » parfois considéré comme correspondant à un état juvénile ; $\times 30\ 000$.

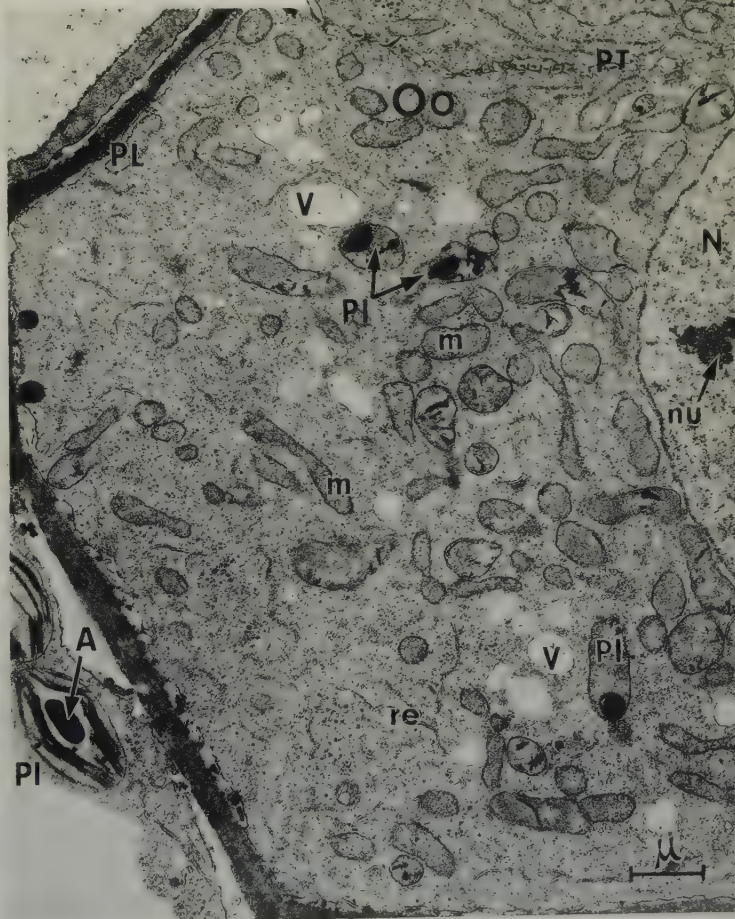
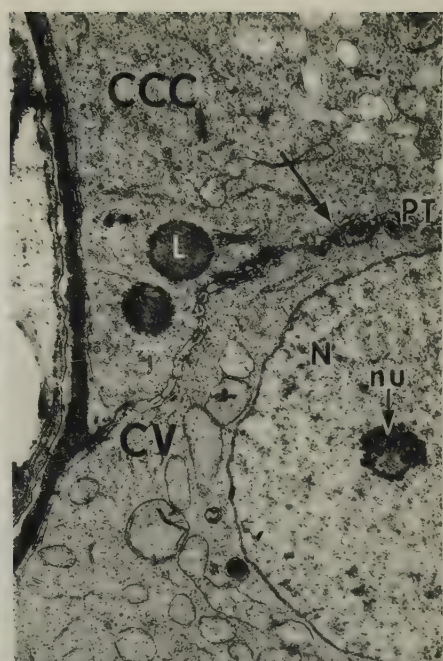


Planche III. — Stade plus avancé de la sécrétion mucilagineuse. Méthode AP-TCH-Ag.

Fig. a. — Vue générale de la cellule du canal du col binucléée. Réticulum endoplasmique en nappes parallèles entre elles et au plasmalemme. Ce dernier est nettement décollé par endroit le long des parois cellulosesiques longitudinales, là où s'accumule le mucilage ; $\times 4\ 000$.

Fig. b. — Détail de la figure a. Le mucilage s'accumule principalement dans les angles des cellules. Son aspect est hétérogène ; $\times 30\ 000$.

Fig. c. — Détail de la cellule ventrale au même stade. Certaines vésicules golgiennes contiennent des substances opacifiées par le traitement ($\nearrow$). Disposition du réticulum endoplasmique à la périphérie de la cellule ; $\times 25\ 600$.

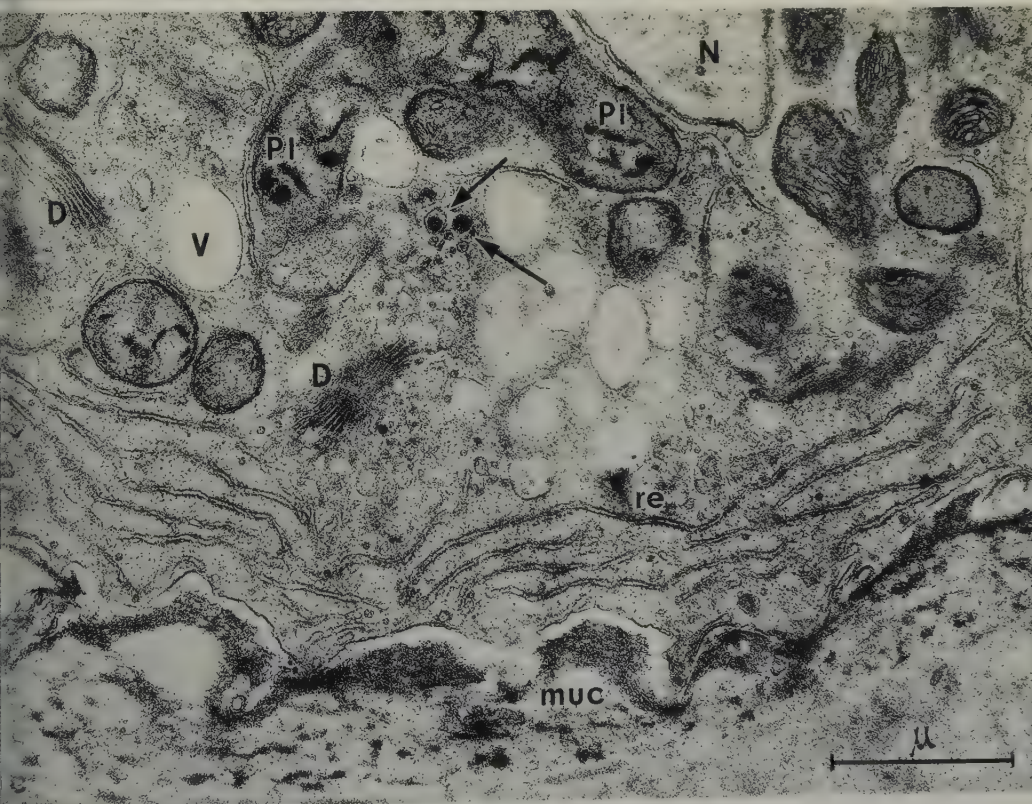
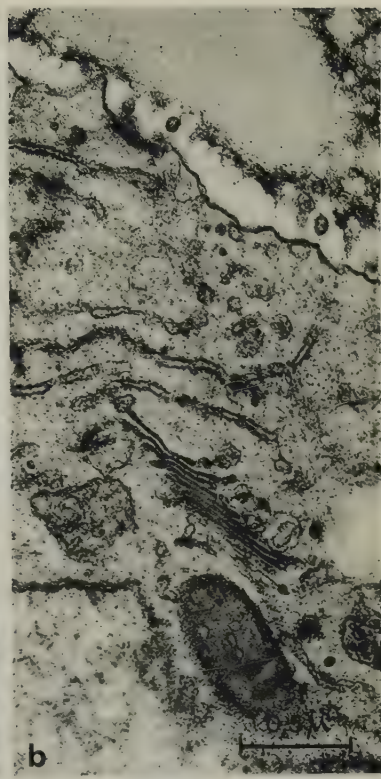
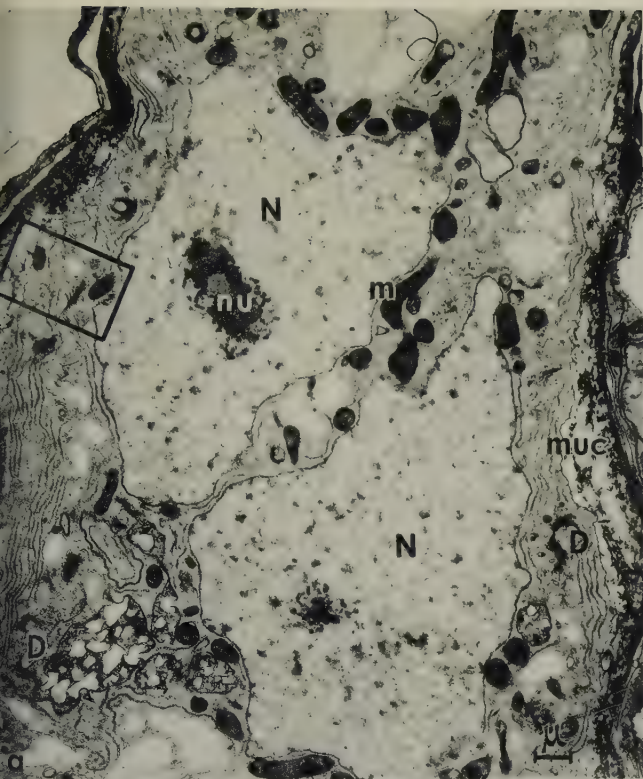


Planche IV. — Phase sécrétoire principale. Méthode AP-TCH-Ag.

Fig. a. — Vue d'ensemble d'un archégone à un stade plus avancé de la sécrétion. L'oosphère qui participe, mais faiblement, à l'élaboration du mucilage, reste en contact assez tardivement avec la cellule ventrale dans la zone axiale du canal. Activité élaboratrice très importante de la cellule ventrale du canal dont le cytoplasme est parsemé de nombreuses vésicules golgiennes à contenu polysaccharidique ; $\times 9\,000$.

Fig. b. — Détail de deux dictyosomes de la cellule du canal du col (l'un à gauche en coupe sagittale et l'autre en coupe tangentielle). Les substances glucidiques sont révélées au niveau des ampoules périphériques des saccules golgiens ; $\times 54\,000$.

Planche V. — Phase sécrétoire principale (KMnO_4 -AcU-Pb).

Cellule du canal du col au cours de la dégénérescence pycnotique du noyau, dans lequel pénètrent des invaginations du cytoplasme contenant des organites. Remarquer le contour très découpé de la cellule, la répartition et le nombre important des dictyosomes et des vésicules d'origine golgienne, ainsi que la disposition périphérique du réticulum endoplasmique ; $\times 9\,000$.



Planche VI. — Phase sécrétoire principale (suite).

Fig. a. — AcU-Pb. Détail du cytoplasme de la cellule du canal du col à un stade correspondant à celui défini planche V. Aspect du mucilage et répartition des dictyosomes. Certaines vésicules golgiennes contiennent en leur centre un produit dense ; $\times 23\ 800$.

Fig. b. — Méthode AP-TCH-Ag. Détail d'un dictyosome dont le contenu des vésicules réagit spécifiquement au test des polyholosides ; $\times 55\ 000$.

Fig. c. — Méthode AP-TCH-Ag. Comparer avec la fig. a. Les vésicules golgiennes sont marquées spécifiquement par le test des polyholosides. Le plasma-lemme montre une nette réactivité par rapport aux autres membranes ; $\times 35\ 000$.

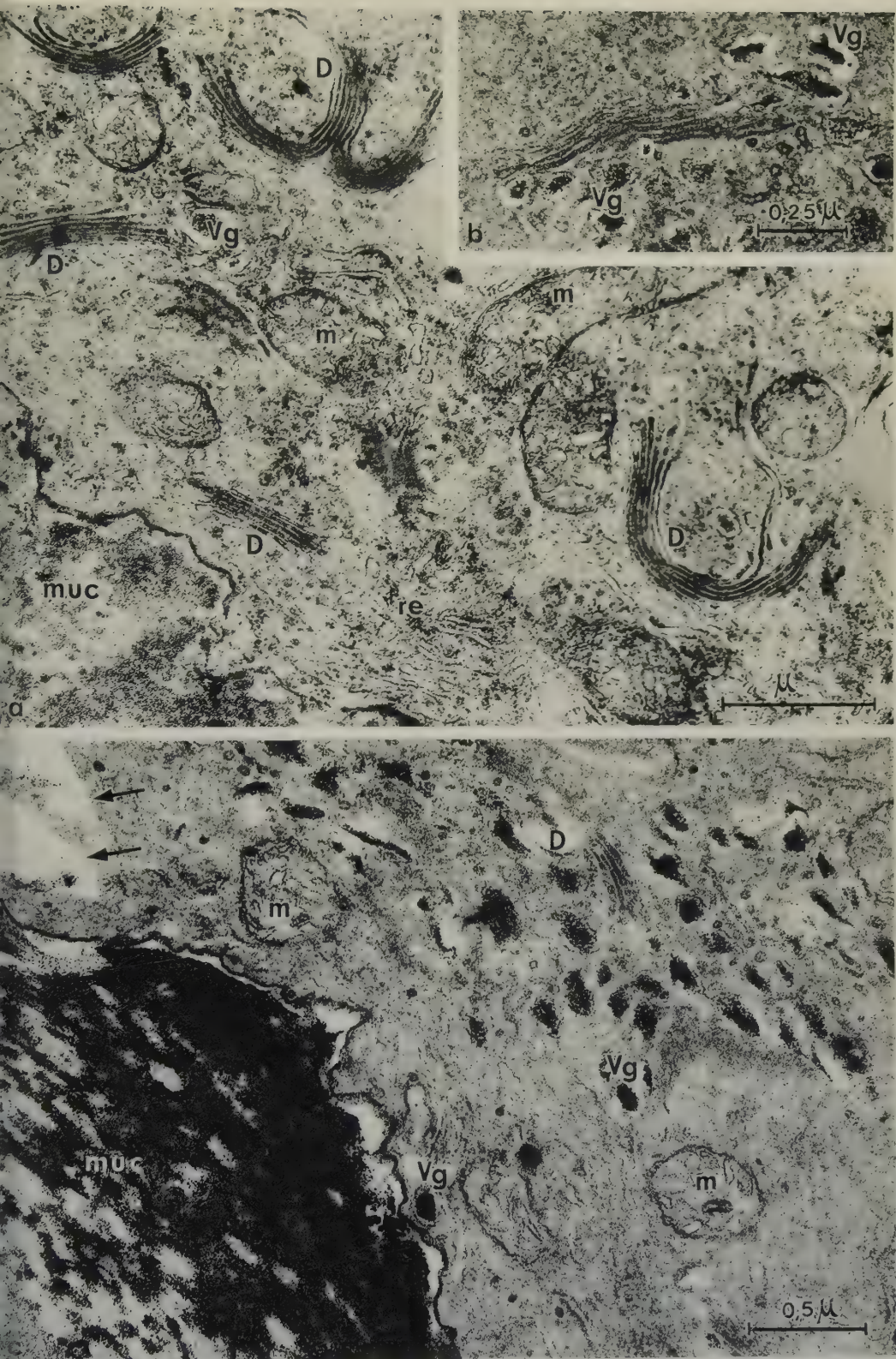


Planche VII. — Activité golgienne et digestions par la pectinase.

Fig. a. — Méthode AP-TCH-Ag. Coupe tangentielle d'un dictyosome avec une zone centrale grise homogène, une zone de canalicules à contraste plus élevé et, à l'extérieur, vésicules à contenu très dense ; $\times 55\ 000$.

Fig. b. — Méthode AP-TCH-Ag. Les dictyosomes présentent parfois une altération de leur zone axiale ; $\times 63\ 000$.

Fig. c. — Digestion par la pectinase et méthode AP-TCH-Ag. Aspect du cytoplasme de la cellule du canal du col après digestion. Le mucilage fait place à une zone claire ; il semble dissout en très grande partie. Les vésicules golgiennes sont aussi beaucoup plus claires ; il y persiste toutefois quelques précipités argentiques ; $\times 37\ 500$.

Fig. d. — Coupe témoin non oxydée par l'acide periodique. Les extrémités des saccules et les vésicules golgiennes sont transparentes aux électrons ; $\times 40\ 000$.

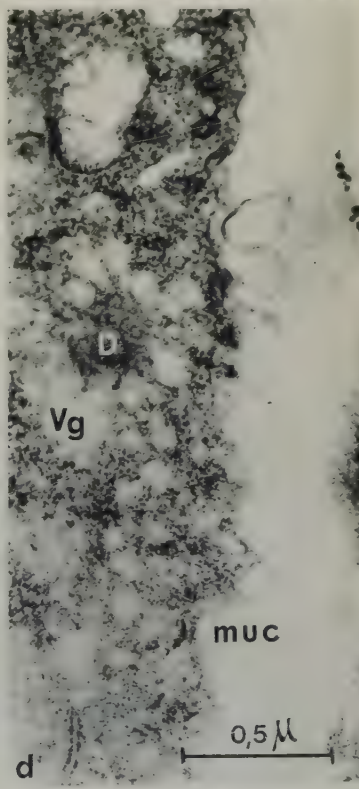
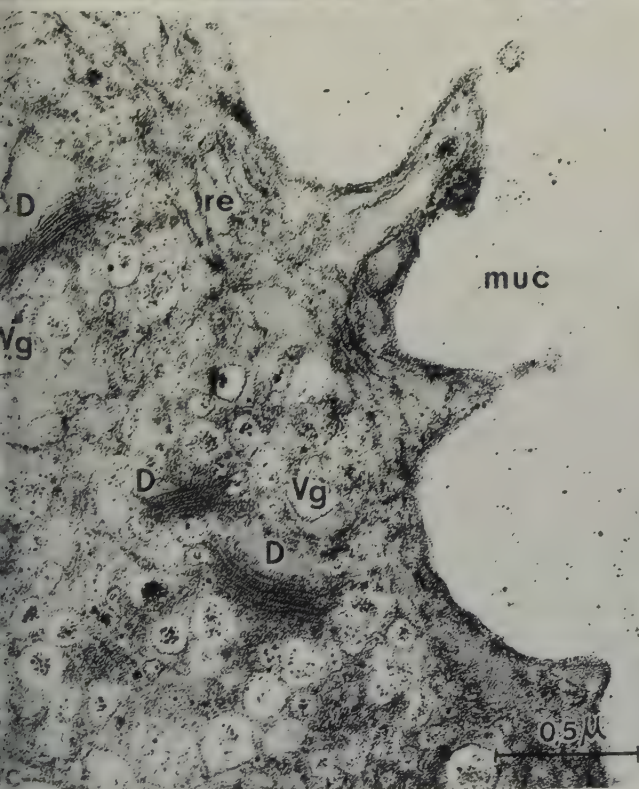
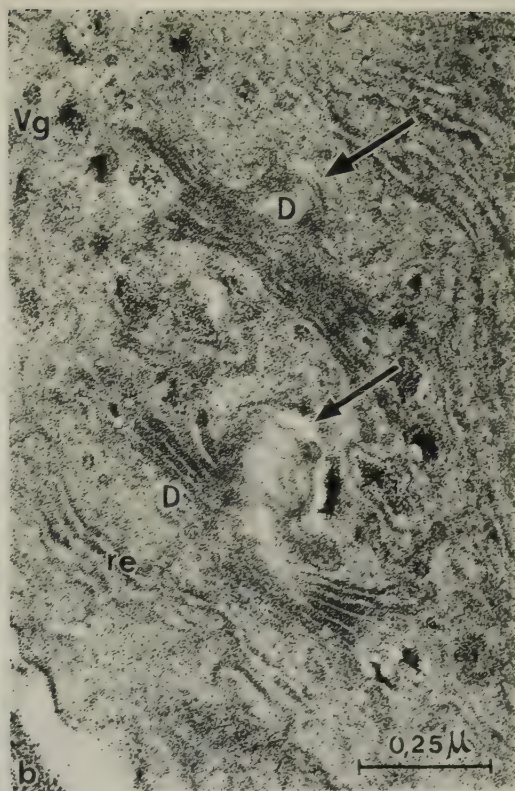
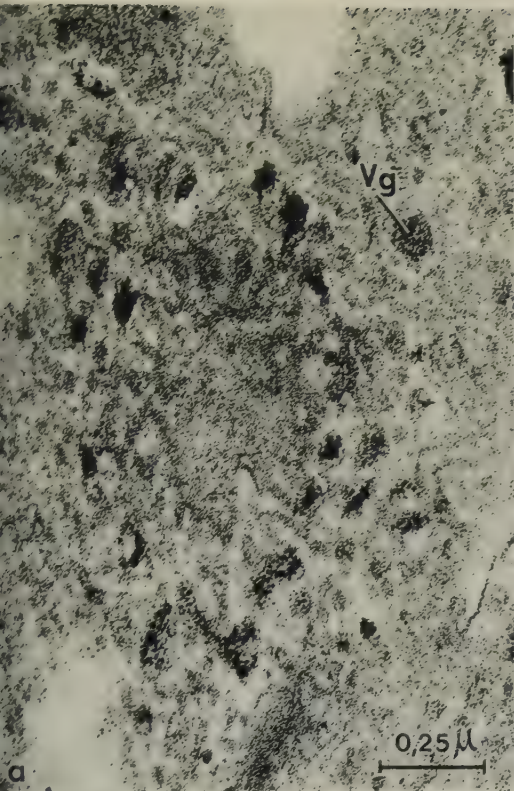


Planche VIII. — Sécrétion polyholosidique de l'oosphère.

Fig. a. — Méthode AP-TCH-Ag. Sécrétions mucilagineuses de l'oosphère beaucoup moins denses que celles des cellules du col. Successivement de haut en bas, le cytoplasme de la cellule ventrale, le mucilage qu'elle sécrète, l'emplacement de l'ancienne cloison, le mucilage sécrété par l'oosphère, la membrane spéciale de l'oosphère, enfin le cytoplasme de l'oosphère ; $\times 19\ 000$.

Fig. b. — Digestion par la pectinase et méthode AP-TCH-Ag. Après traitement par la pectinase, le mucilage a pratiquement disparu, la membrane spéciale est préservée. Les parois pectiques sont très fortement attaquées par l'enzyme tandis que l'amidon des plastes n'est nullement altéré ; $\times 44\ 000$.

Fig. c. — Digestion par la pectinase et méthode AP-TCH-Ag. Détail d'un dictyosome de l'oosphère. Certaines ampoules apparaissent très claires ($\swarrow$), d'autres beaucoup moins ($\swarrow\swarrow$) ; elles pourraient correspondre aux deux types de sécrétions qui interviennent dans l'oosphère : mucilage et membrane spéciale ; $\times 54\ 000$.

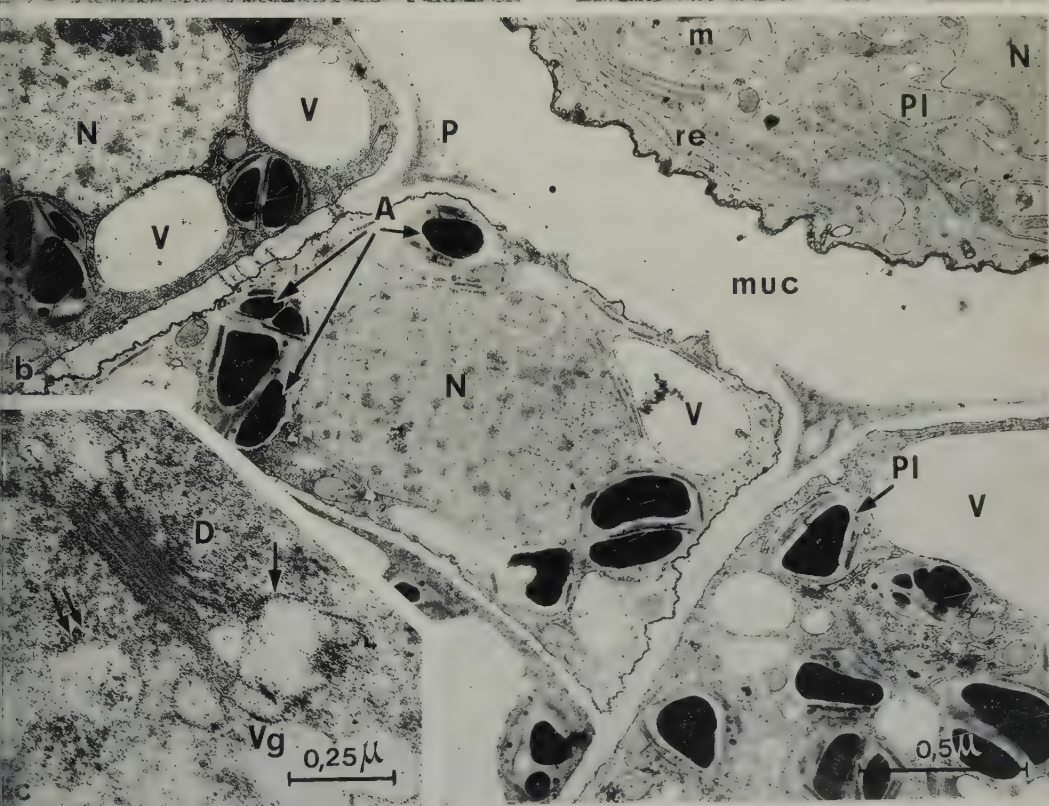
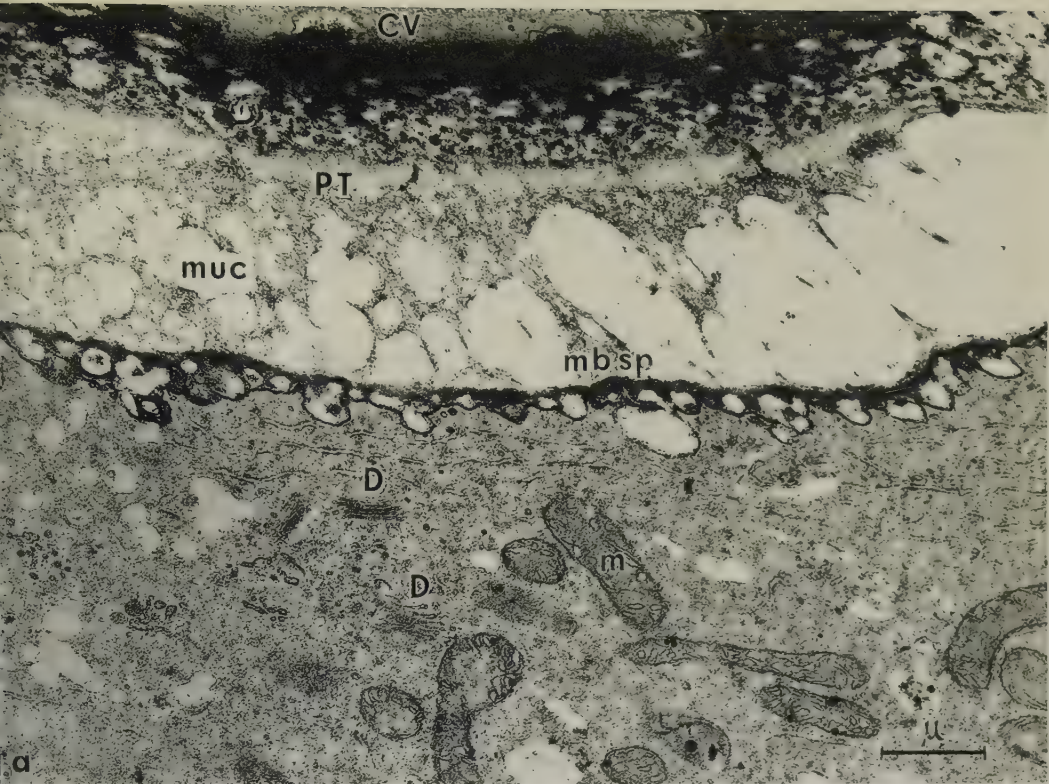


Planche IX. — Stade avancé de la sécrétion.

Fig. a. — Méthode AP-TCH-Ag. Détail du cytoplasme périphérique de l'oosphère. Revêtement glucidique dense de l'oosphère dont le matériel provient de grosses vésicules intracytoplasmiques (✓). Mucilage plus externe et beaucoup plus lâche ; $\times 41\,500$.

Fig. b. — Méthode AP-TCH-Ag. Enclaves à l'intérieur du cytoplasme, parfois même près du noyau. Elles se trouvent incorporées au mucilage extracellulaire par désintégration du cytoplasme périphérique ; $\times 32\,000$.

Fig. c. — Méthode AP-TCH-Ag. Sécrétion de type plus « lâche » que la précédente. C'est l'aspect que prend la sécrétion mucilagineuse lorsque le noyau des cellules a disparu. Les fibrilles s'insinuent entre deux types de plages, les unes grises, les autres claires. Il semble que ce soit le résultat de l'émission de deux types de vésicules golgiennes, les unes petites, à contenu dense (✓✓), les autres grandes (✓), à contenu plus clair ; $\times 30\,000$.

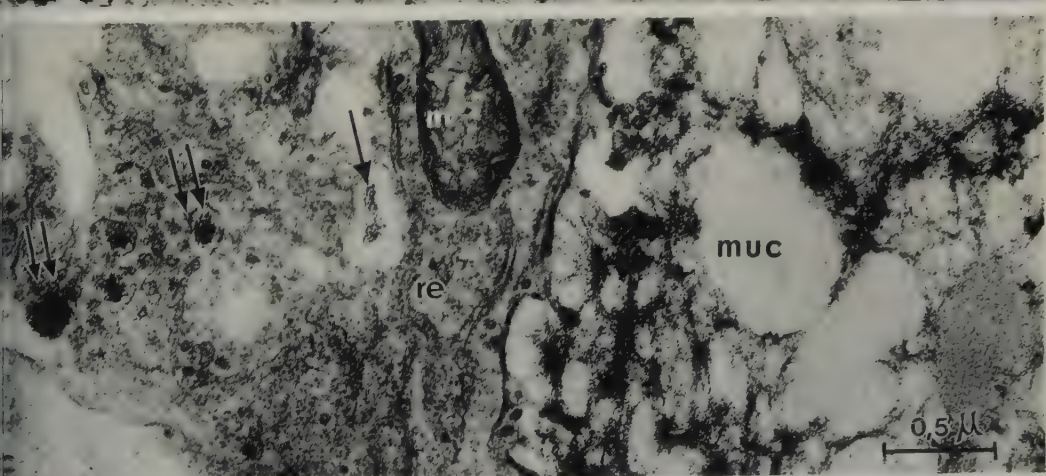
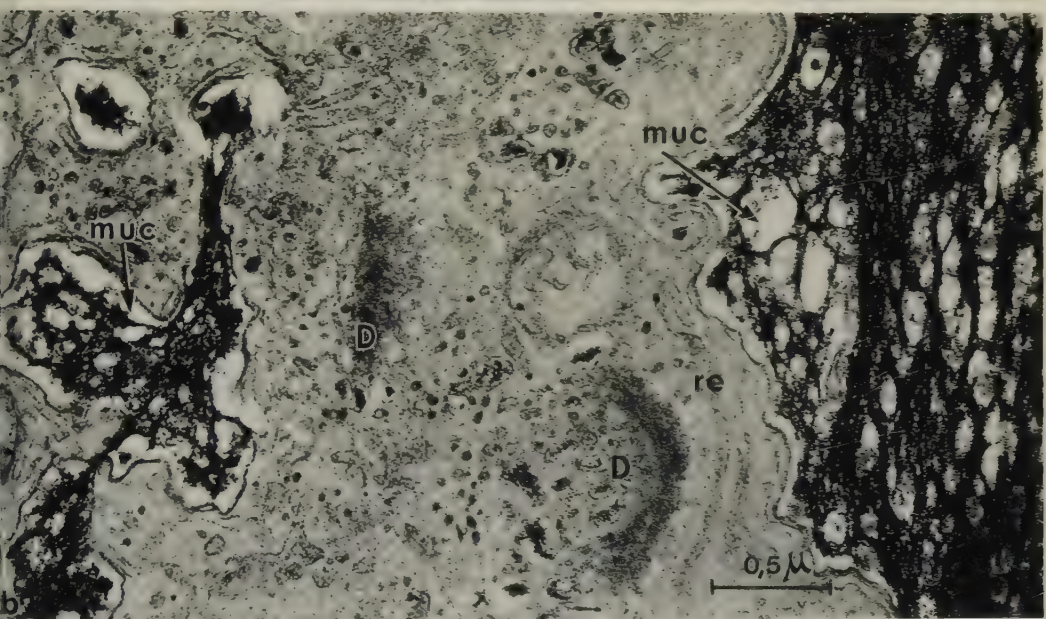
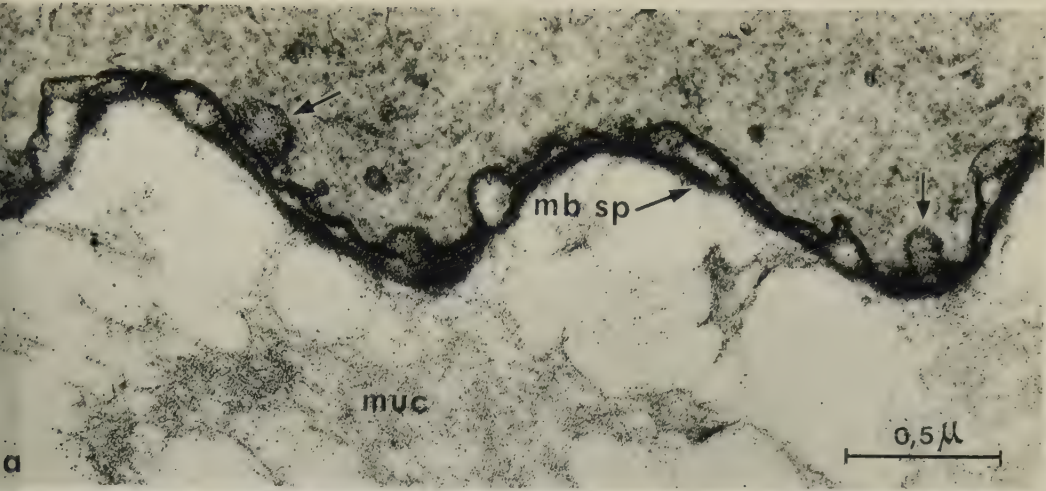
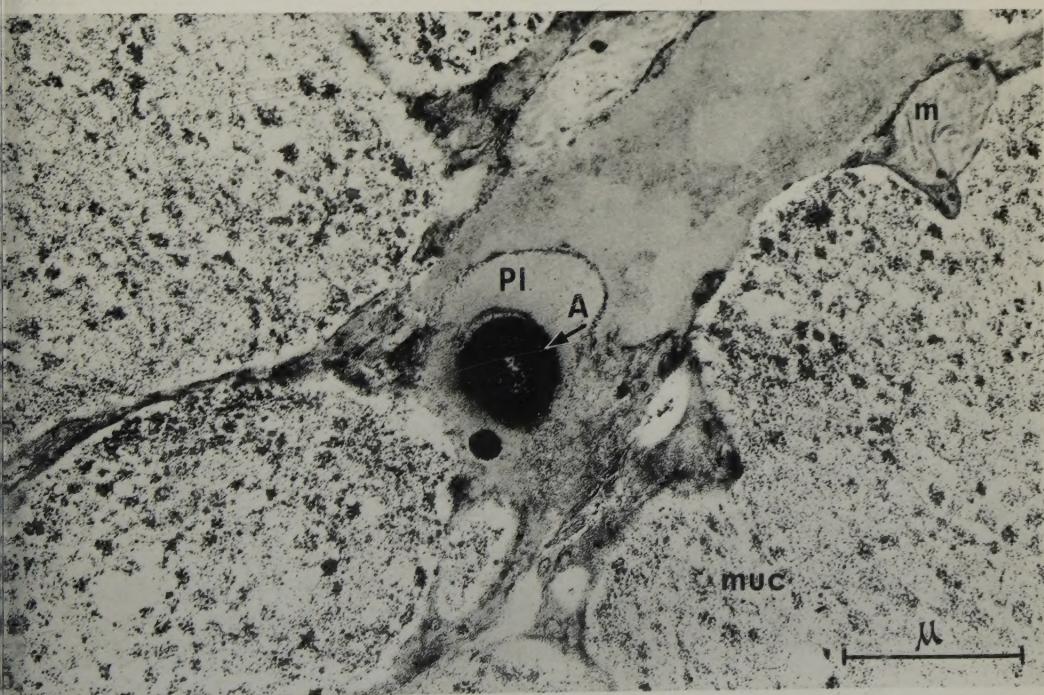
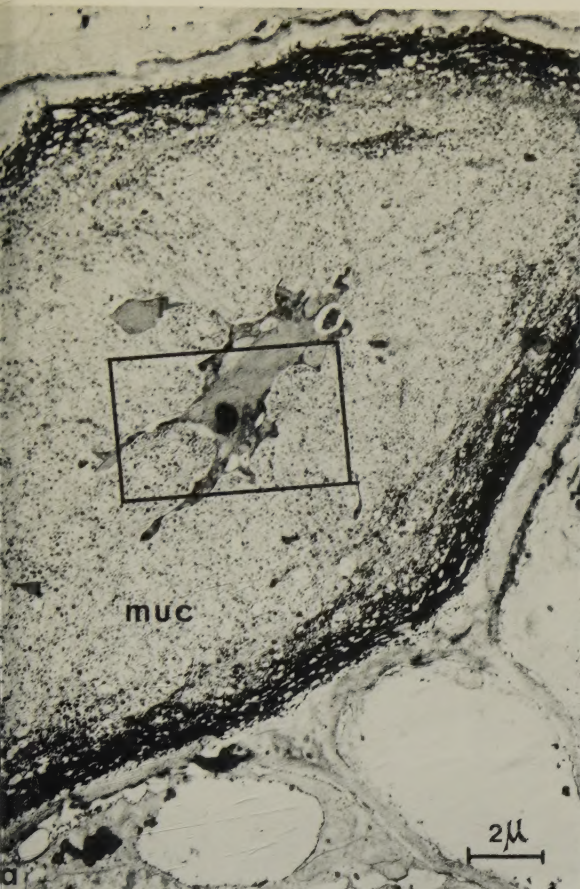


Planche X. — Stade ultime de la sécrétion mucilagineuse (Méthode AP-TCH-Ag).

Fig. a. — Dans la cavité archégoniale, on ne trouve plus qu'une masse de mucilage avec au centre quelques fragments de cytoplasme. La densité du mucilage décroît de la périphérie vers le centre, ce qui correspond à la période nucléée puis anucléée de la cellule ; $\times 5\ 000$.

Fig. b. — Détail de la fig. *a* ; on voit encore un plaste avec une enclave d'amidon et une mitochondrie apparemment peu altérée ; $\times 26\ 000$.

Fig. c. — Après ouverture du col de l'archégone, l'eau pénètre dans la cavité archégoniale gonflant le mucilage et en modifiant rapidement son aspect. On voit un réseau plus dense à la périphérie qu'au centre, et correspondant très probablement aux chaînes de molécules glucidiques ; $\times 24\ 000$.



INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

MANUSCRITS. Les manuscrits doivent être envoyés à la Société Française de Microscopie Electronique, Journal de Microscopie, 24, rue Lhomond Paris (5^e), en **double exemplaire**.

Bien que la langue officielle soit le **français**, le journal accepte les articles en **anglais** ou en **allemand**.

Les manuscrits doivent être dactylographiés à interligne double.

Un mémoire peut avoir 20 pages imprimées, soit 60 000 caractères environ, une lettre à l'éditeur, 4 pages imprimées, soit 12 000 caractères environ (figures au trait et tableaux compris). Les pages supplémentaires sont aux frais de l'auteur.

ILLUSTRATIONS PHOTOGRAPHIQUES. Les photographies sont reproduites sur des planches hors texte par phototypie sur papier Eurokote pelliculé ; celles-ci sont placées à la fin de l'article ; la justification des planches est de **140×210 mm**. Elles sont numérotées en chiffres romains ; si une planche comporte plusieurs micrographies, celles-ci sont désignées par les lettres : a, b, c, etc. à l'intérieur de chaque planche. Il est demandé aux auteurs de faire parvenir trois jeux de photographies ; deux jeux où les photographies sont assemblées et lettrées selon les désirs de l'auteur, un troisième jeu non monté, non lettré et cadré très largement. Le montage des planches et le lettrage sont faits par les éditeurs, ceci afin de rendre plus homogène la présentation des documents. Le journal offre quatre planches hors texte gratuites par mémoire. Les lettres à l'éditeur ne comporte qu'une planche gratuite. Les planches supplémentaires sont aux frais de l'auteur au prix de 330 F chacune.

FIGURES AU TRAIT. Les figures et schémas au trait ainsi que leurs légendes sont reproduits dans le texte et leur place doit être indiquée sur le manuscrit. Elles sont numérotées en chiffres arabes.

BIBLIOGRAPHIE. Les références des auteurs cités dans le texte sont placées à la fin de l'article et disposées par ordre alphabétique. Elles peuvent alors être numérotées pour faciliter les renvois du texte à la bibliographie.

Le titre de l'article, la revue, le volume, la première et la dernière page doivent être indiqués.

La ponctuation doit être placée selon le modèle :

1. FAURÉ-FREMIET E., 1961. Le cytoplasme stomo-pharyngien des Ciliés cyrtophores. *C.R. Acad. Sc.*, **253**, 357-362.
2. GIBBONS I.R. and GRIMSTONE A.V., 1960. On flagellar structure in certain flagellates. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, 697-716.
3. WIESENBERGER E., 1958. Die Anwendung Mikrochemischer Nachweisverfahren in der Elektronenmikroskopie. *Quatrième Congrès International de Microscopie Electronique*. Springer, ed., Berlin, I, 769-779.

RESUMES. Il est demandé deux résumés : **un résumé en français et un autre en anglais** qui sont placés à la fin de l'article. Chacun de ces résumés ne doit pas dépasser une quinzaine de lignes soit 1 000 caractères environ. Il n'est pas demandé de résumé pour les lettres à l'éditeur.

TIRES A PART. En même temps que l'envoi de son manuscrit, il est demandé à l'auteur de préciser le nombre de tirés à part désiré. Ceux-ci lui sont facturés au prix coûtant. Pour des raisons techniques dues au procédé de reproduction par phototypie, le nombre de tirés à part ne peut être inférieur à 200. Au-delà de ce nombre les tirés à part sont fournis par multiple de 100.

